

IVANA FERNANDES DA SILVA

**DESEMPENHO DE POPULAÇÕES GEOGRÁFICAS DE *Helicoverpa armigera*
(Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) EM DIETAS NATURAIS E ARTIFICIAL E
CARACTERIZAÇÃO POR MICROSSATÉLITES**

Botucatu

2017

IVANA FERNANDES DA SILVA

**DESEMPENHO DE POPULAÇÕES GEOGRÁFICAS DE *Helicoverpa armigera*
(Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) EM DIETAS NATURAIS E ARTIFICIAL E
CARACTERIZAÇÃO POR MICROSSATÉLITES**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agronômicas da UNESP – Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Proteção de Plantas)

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Lopes Baldin

Coorientador: Dr. Alexandre Specht

Botucatu

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

S586d Silva, Ivana Fernandes da, 1986-
Desempenho de populações geográficas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em dietas naturais e artificial e caracterização por microssatélites / Ivana Fernandes da Silva. - Botucatu : [s.n.], 2017
124 p. : fots. color., grafs., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2017

Orientador: Edson Luiz Lopes Baldin

Coorientador: Alexandre Specht

Inclui bibliografia

1. Lepidoptero - Populações. 2. Nutrição - Necessidades. 3. Alimentos formulados. 4. Dinâmica populacional. 5. Biologia molecular. I. Baldin, Edson Luiz Lopes. II. Specht, Alexandre. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. IV. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "DESEMPENHO DE POPULAÇÕES GEOGRÁFICAS DE *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) EM DIETAS NATURAIS E ARTIFICIAL E CARACTERIZAÇÃO POR MEIO DE MICROSSATÉLITES"

AUTORA: IVANA FERNANDES DA SILVA

ORIENTADOR: EDSON LUIZ LOPES BALDIN

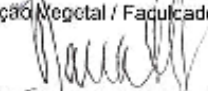
COORIENTADOR: ALEXANDRE SPECHT

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. EDSON LUIZ LOPES BALDIN
Dep. de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu


Prof. Dr. JOSÉ PAULO GONÇALVES FRANCO DA SILVA
Dep. de Entomologia Agrícola / Florestal / FAEF - Faculdade de Ensino Superior e Formação Integrada


Prof. Dr. CARLOS FREDERICO WILCKEN
Dep. de Proteção Vegetal / Faculdade de Ciências Agrômicas


Prof. Dr. DANIEL RICARDO SOSA-GOMEZ
Entomologia / EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Soja


DR. ANDRÉ LUIZ LOURENÇÃO
Entomologia / INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS

Botucatu, 12 de abril de 2017.

Aos meus amados pais Reinaldo e Maria,
por todo amor, confiança, incentivo e por todas as orações
diárias.

Ofereço

Ao meus irmãos e sobrinhos,
por todo apoio e compreensão em todos os momentos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Edson Luiz Lopes Baldin, pela orientação, compreensão, confiança, valiosos ensinamentos ao longo do meu doutorado e por proporcionar um crescimento pessoal e profissional diário;

Ao Dr. Alexandre Specht e seu laboratório (Embrapa-Cerrados), pela coorientação e compreensão em todas as etapas do trabalho;

À Dr^a Silvana V. de Paula-Moraes, pela atenção, ajuda, confiança e participação no trabalho;

À Dr^a Vânia Ferreira Roque-Specht, pela valiosa contribuição no trabalho;

Ao Dr. Daniel Ricardo Sosá-Gomez e seu laboratório (Embrapa-Soja), pela contribuição nas análises moleculares;

Ao Dr. Juaci V. Malaquias (Embrapa-Cerrados), pela contribuição nas análises estatísticas;

À Faculdade de Ciências Agronômicas de Botucatu, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Proteção de Plantas, pela oportunidade;

Aos Professores do Departamento de Proteção Vegetal da FCA/UNESP, pelos ensinamentos transmitidos e colaboração;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

Aos meus amigos (presentes e que já passaram) do Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas (LARESPI), pelo bom convívio diário, momentos agradáveis e de muita descontração, troca de experiências e auxílio em várias etapas do trabalho;

Agradeço em especial à Rafaela Morando, por todo apoio e amizade em cada etapa do doutorado;

À Marylia Gabriella e Laís Silva, pela amizade e boa convivência durante todos os anos de república;

Aos funcionários e aos amigos do Departamento de Proteção Vegetal da FCA/UNESP, pela atenção e colaboração;

Ao Dr. Ivan Cruz (Embrapa Milho e Sorgo), pela contribuição durante todos os anos de convivência e ajuda na minha formação profissional;

À Amanda Oliveira, Cynthia Guimarães e Simone Riboldy, amigas queridas que estiveram comigo em vários momentos da vida.

Agradeço em especial e imensamente à Nídia e à Nara Costa, que foram fundamentais na minha vida, e que em algum momento foram também a minha família.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, serei eternamente grata.

RESUMO

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) possui ampla distribuição geográfica e é reponsável por perdas econômicas em várias culturas de importância agrícola ao redor do mundo. As lagartas apresentam grande plasticidade em termos de exigência nutricional e, devido à polifagia, se adaptam a diversos hospedeiros, com valores nutricionais variados, os quais podem afetar seu desenvolvimento biológico. Considerando a recente introdução do inseto no Brasil (2013), aliada à falta de consenso sobre a origem das populações a campo, dificuldades no estabelecimento de criações massais, bem como a necessidade de maior entendimento sobre sua interação com os hospedeiros em nosso país, este estudo teve como objetivos: disponibilizar uma dieta padronizada para criações de *H. armigera* em laboratório ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R. e 14h de fotofase), caracterizar molecularmente três populações, de São Paulo, Bahia e Distrito Federal, avaliar o desempenho biológico e o potencial biótico de indivíduos provenientes de diferentes populações em dieta artificial e investigar a performance de *H. armigera* em estruturas vegetativas e reprodutivas de algodão, milho e soja. As análises moleculares mostraram similaridade elevada entre indivíduos das três populações, indicando uma origem única para *H. armigera* no Brasil. O método de criação, bem como os índices nutricionais da dieta artificial oferecida se revelaram adequados para o inseto. A viabilidade média das fases larval e pré-pupal foi semelhante nas três populações. A duração média em dias das pupas fêmeas de seis instares foi de 11,4; 11,6 e 12,0 dias, para as populações de SP, DF e BA, respectivamente. As fêmeas de São Paulo apresentaram a maior média de peso pupal. A progênie proveniente de algodão (BA) apresentou maior potencial biótico, maior taxa reprodutiva e melhor fecundidade em relação aos insetos das outras regiões. Nos tecidos vegetativos e reprodutivos de soja, milho e algodão, os índices de viabilidade larval variaram de 22% a 55%, enquanto que na dieta artificial a viabilidade foi de 62%. Na comparação com as dietas naturais, a dieta artificial se revelou como o substrato mais adequado ao desenvolvimento de *H. armigera*, no entanto, não se deve descartar a variabilidade na composição nutricional dos hospedeiros naturais a campo, bem como a oferta mista a partir de diferentes partes da planta ou migração entre espécies vegetais durante a fase larval do inseto.

Palavras-chave: Performance biológica. Populações. Parâmetros nutricionais. Hospedeiros. Dieta artificial.

ABSTRACT

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) has a wide geographical distribution and contributes to economic losses in several crops of agricultural importance around the world. The larvae present great plasticity in terms of nutritional requirement and, due to polyphagia, they adapt to several hosts with varied nutritional values which may affect their biological development. Taking into account the recent introduction of these insects in Brazil (2013), along with the lack of consensus on the origin of their populations in the field, as well as the difficulties in establishing mass creations, and the need for greater understanding of their interaction with the hosts in our country, this study had as its objectives: to provide a standardized diet for laboratory *H. armigera* (25±2°C, 70±10% R.H., and 14h of photophase); to molecularly characterize three populations from São Paulo (SP), Bahia (BA), and Distrito Federal (DF); to evaluate the biological performance and biotic potential of individuals from different populations on artificial diet; and to investigate the performance of *H. armigera* in vegetative and reproductive structures of cotton, corn and soybean. The molecular analyzes showed a high similarity between individuals of the three populations, which indicates a unique origin for *H. armigera* in Brazil. The breeding method, as well as the nutritional indexes of the artificial diet offered, was adequate for the insects. The mean viability of the larval and prepupal stages was similar in all three populations. The mean duration in days of female pupae of six instars was 11.4; 11.6 and 12.0 days for the populations of SP, DF and BA, respectively. Females from São Paulo had the highest mean pupal weight. Progeny from cotton in BA presented higher biotic potential, higher reproductive rate and better fecundity in relation to the insects from the other regions. In the vegetative and reproductive tissues of soybean, corn and cotton, larval viability ranged from 22% to 55%, while in the artificial diet, viability was 62%. In comparison with natural diets, the artificial diet proved to be the most adequate substrate for the development of *H. armigera*; however, the variability in the nutritional composition of the natural hosts in the field should not be ruled out, neither the mixed supply from different parts of the plant, nor the migration among plant species during the larval stage of the insect.

Keywords: Biological performance. Populations. Nutritional parameters. Hosts. Artificial diet.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	15
 CAPÍTULO I - PÓS-INVASÃO DE <i>Helicoverpa armigera</i> (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE): CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E BIOLÓGICA DE ESTÁDIOS IMATUROS DE DIFERENTES LOCAIS E PLANTAS HOSPEDEIRAS.	20
Resumo	20
Abstract	21
Introdução	22
Material e Métodos	23
Resultados	27
Discussão	30
Agradecimentos	35
Referências Citadas	36
 CAPÍTULO II - POTENCIAL BIÓTICO E TABELA DE VIDA DE <i>Helicoverpa armigera</i> (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) DE TRÊS REGIÕES BRASILEIRAS	49
Resumo	49
Abstract	50
Introdução	51
Material e Métodos	52
Resultados e Discussão	56
Agradecimentos	59
Referências	60
 CAPÍTULO III - PERFORMANCE DIFERENCIAL DE <i>Helicoverpa armigera</i> (HÜBNER) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM DIETA NATURAL E ARTIFICIAL E SUA RELAÇÃO COM A COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL.....	71

Resumo	71
Abstract.....	72
Introdução.....	73
Material e Métodos	75
Resultados.....	79
Discussão	81
Agradecimentos.....	88
Referências citadas	89
2 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	106
3 CONCLUSÕES.....	107
REFERÊNCIAS	108
ANEXOS.....	117

1 INTRODUÇÃO GERAL

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie com ampla distribuição geográfica (ZALUCKI; FURLONG, 2005), tendo sido relatada como praga agrícola em países da América, Ásia, Europa, África e Oceania (ZALUCKI et al., 1986; CZEPAK et al., 2013; SPECHT et al., 2013; EFSA, 2014; MURÚA et al., 2014; KRITICOS et al., 2015; CHAKROUN et al., 2016). O inseto contribui significativamente para perdas econômicas em várias culturas de importância agrícola (TALEKAR et al., 2006; NASERI et al., 2011; CUNNINGHAM; ZALUCKI, 2014) e é capaz de infestar mais de 100 espécies de plantas cultivadas ao redor do mundo. A espécie é mundialmente reconhecida como uma das mais devastadoras pragas agrícolas (CUNNINGHAM; ZALUCKI, 2014) e é comumente retratada na literatura como “Old World (African) bollworm”, “Cotton bollworm”, “Corn earworm” (LAMMERS; MACLEOD, 2007) ou “Tomato fruit worm” (LIN; YUN-CHE, 2010). Esse noctuídeo apresenta grande mobilidade entre as plantas hospedeiras e elevada capacidade de dispersão; seus adultos podem percorrer distâncias de até 1.000 km em vôos noturnos (PEDGLEY, 1985).

Além da polifagia, sua grande ameaça como praga-chave em várias culturas (CUNNINGHAM; ZALUCKI, 2014) deve-se às altas taxas de reprodução; possibilidade de diapausa facultativa, o que favorece melhor ajuste nas distribuições espaciais e temporais entre seus hospedeiros (KRISHNAREDDY; HANUR, 2015); capacidade de sobrevivência em vários habitats (FITT, 1989; ZALUCKI et al., 1994), podendo apresentar até 11 gerações em um único ano (RIJAL, 2006). Além disso, o inseto apresenta grande habilidade de adaptação sob condições adversas de umidade e temperatura (FITT, 1989; ALI et al., 2009).

Outros fatores que elevam sua importância como praga agrícola estão relacionados à alta incidência com que ocorre nas lavouras comerciais, resistência à grupos de inseticidas comumente utilizados (ZALUCKI et al., 1986; MORAL GARCIA, 2006) e a plantas que expressam proteínas Bt (MAHON et al., 2007; LIU et al., 2010; ZHANG et al., 2012; TABASHNIK et al., 2013; CHAKROUN et al., 2016; DOURADO et al., 2016). Cabe ressaltar, ainda, que o risco de resistência a plantas geneticamente modificadas permanece como preocupação constante para esta espécie, uma vez que

várias outras espécies de lepidópteros-praga já foram relatadas como resistentes à essa tecnologia (TABASHNIK et al., 2013; FARIAS et al., 2014; GASSMANN et al., 2014).

Os adultos de *H. armigera* apresentam hábito noturno (HARDWICK, 1965). Acasalam-se durante os períodos iniciais de sua fase adulta, sendo que a maioria das fêmeas prefere fazê-lo até o terceiro dia após a emergência (SAITO, 1999). Fatores ambientais como umidade e temperatura exercem forte influência na reprodução do inseto. Uma fêmea pode ser copulada uma ou mais vezes (KING, 1994; HOU; CHENG, 1999; TENG et al., 2009; BAKER; TANN, 2012), podendo depositar mais de 4.000 ovos durante o ciclo, dependendo do hospedeiro e das condições ambientais presentes (HARDWICK, 1965). A oviposição frequentemente ocorre durante a noite (ZALUCKI, 1991) e a escolha do local é mediada por estímulos físicos e químicos. As mariposas escolhem preferencialmente superfícies com certo grau de pilosidade e/ou estruturas reprodutivas (flores, vagens etc.) (KING, 1994; CUNNINGHAM; ZALUCKI, 2014).

A fase imatura de *H. armigera* geralmente passa por cinco a sete instares larvais. A qualidade nutricional recebida pelas larvas durante seu desenvolvimento e temperatura são considerados os principais fatores reguladores (FOWLER; LAKIN, 2001). As larvas apresentam grande plasticidade em termos de exigência nutricional, podendo alimentar-se em diferentes regiões da planta hospedeira, como folhas e hastes. Entretanto, apresentam maior preferência por estruturas reprodutivas (MORAL GARCIA, 2006; LAMMERS; MACLEOD, 2007; PERKINS et al., 2008, 2009). As larvas podem apresentar diferentes colorações, variando de tons verde-rosado a marrom ou até mesmo quase pretas, ocorrendo duas linhas longitudinais ao longo do dorso (RIJAL, 2006). Durante a fase larval, os indivíduos podem apresentar hábito canibal, o que pode ser um fator de redução populacional do inseto (LIU et al., 2004; MIRODINIS et al., 2013).

Também devido ao hábito polífago da espécie, suas larvas acabam se desenvolvendo em dietas com valores nutricionais pouco apropriados, impactando negativamente seu desenvolvimento biológico (RUAN; WU, 2001; SCHELLHORN et al., 2008). Algumas variações nutricionais dos alimentos influenciam diretamente no desempenho biológico dos insetos, acarretando ao longo do tempo variações nos

indivíduos (SARFRAZ et al., 2006). Em função disso, a disponibilidade dos hospedeiros naturais no campo tem papel fundamental nos surtos populacionais do inseto (SOUTHWOOD; HENDERSON, 2000) e está diretamente relacionada com a dinâmica populacional da praga em vários sistemas de produção (MAELZER; ZALUCKI, 1999; KRISHNAREDDY; HANUR, 2015).

No Brasil, *H. armigera* foi detectada oficialmente em 2013 (CZEPAK et al., 2013) e anteriormente era considerada uma praga quarentenária para o continente americano (SOSA-GÓMEZ et al., 2016). Sua introdução causou grande preocupação em vários estados brasileiros, onde foram registradas grandes perdas econômicas, além da necessidade de três ou mais aplicações adicionais de defensivos para o seu controle, principalmente nas culturas de algodão e soja.

A maior importância de *H. armigera* concentra-se em áreas do Cerrado brasileiro, onde os sistemas de produção intensivos, intercalam três hospedeiros preferenciais, como as culturas do algodão, milho e soja (REIGADA et al., 2016). Estes hospedeiros são cultivados extensivamente e sequencialmente, com janelas de plantio e colheita que se sobrepõem durante as diferentes safras agrícolas (JALLOW; ZALUCKI, 2003; REIGADA et al., 2016), de forma que sempre há oferta de alimento. Essa sucessão contínua das culturas, aliada a aplicações excessivas de defensivos, a presença de plantas invasoras em áreas adjacentes, além do emprego de métodos inadequados de manejo, pode proporcionar a ocorrência de surtos populacionais da praga, como os já relatados em território nacional (CZEPAK et al., 2013; EMBRAPA, 2013).

Os registros iniciais de *H. armigera* foram feitos com base em amostras obtidas nos estados de Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso e Paraná (CZEPAK et al., 2013; EMBRAPA, 2013; SPECHT et al., 2013). Porém, exames de dados de coleções revelaram que em 2011 alguns exemplares da espécie já haviam sido coletados no Rio Grande do Sul e em 2012 no Amapá (SOSA-GÓMEZ et al., 2016). Posteriormente à detecção dessa espécie, houve a construção de uma superpopulação que se irradiou para toda a América do Sul. Posteriormente, o inseto foi também detectado na Argentina (MURÚA et al., 2014), Paraguai (PARAGUAY, 2014), Estados Unidos (HYDEN; BRAMBILA, 2015) e Uruguai (ARNEMANN et al., 2016).

Após sua detecção no Brasil, estudos se referiram às infestações como “populações” coletadas em diferentes regiões e plantas hospedeiras, destacando a

ocorrência de diversos haplótipos em várias regiões do Brasil (TAY et al., 2013; LEITE et al., 2014; MASTRANGELO et al., 2014). Após esses registros, vários estudos que visam caracterizar diferentes populações considerando-se os aspectos moleculares (MASTRANGELO et al., 2016) e biológicos da espécie foram realizados (SUZANA et al., 2015; BARBOSA et al., 2016; REIGADA et al., 2016).

A partir do conhecimento do potencial de danos do inseto, laboratórios brasileiros vêm tentando manter populações de *H. armigera* sob dietas artificiais (HAYDEN; BRAMBILA, 2015; CHAKROUN et al., 2016); porém, os indivíduos se mantêm por reduzido número de gerações. Uma das prováveis causas de insucesso está relacionada à falta de padronização das dietas utilizadas (CHAKROUN et al., 2016), ou devido à depressão por endogamia. As exigências nutricionais da espécie são cruciais para o sucesso de sua performance nas gerações seguintes (CHAKROUN et al., 2016) e a disponibilidade, qualidade e quantidade do alimento consumido durante o estágio imaturo possui efeito direto sobre o desenvolvimento, dispersão e reprodução na sua fase adulta (SINGH; PARIHAR, 1988).

Assim como ocorre em outros grupos, para Lepidoptera, o fator como a qualidade da dieta oferecida afetará fortemente a performance das futuras gerações (WOESTMANN; SAASTAMOINEN, 2016). Geralmente, as vitaminas desempenham um papel importante na fecundidade do ovo (PARRA, 2009; COHEN, 2004) e, na natureza, esse grupo de nutrientes é obtido por vários meios entre os diversos hospedeiros. Em condições de laboratório, as vitaminas e minerais devem ser disponibilizados em concentrações ótimas para a boa emergência da prole (PARRA, 2009). É importante frisar que a principal contribuição das criações em laboratório, a partir de dietas artificiais padronizadas, é permitir a oferta de insetos de qualidade, de forma padronizada e em quantidades desejáveis, conservando as características naturais da espécie ao longo de várias gerações (PARRA, 2009; SCHNEIDER, 2009).

Deve se destacar que as criações de laboratório, utilizando dietas artificial sob condições controladas, são ótimas opções para aprofundar os conhecimentos sobre a biologia de um inseto. A criação bem-sucedida é prioritária, a fim de se estudar a performance da espécie e permitir também a elaboração de tabelas de vida (SILVEIRA NETO, 1976). Estratégias aplicadas no manejo de *H. armigera* precisam

ser melhor definidas e a disponibilidade de informações básicas sobre sua biologia torna-se peça-chave nesse processo (CHAKROUN et al., 2016).

Considerando-se o potencial de danos que *H. armigera* apresenta para o cenário agrícola brasileiro, este trabalho teve como intuito avaliar a performance biológica de indivíduos provenientes de diferentes regiões do Brasil em dieta artificial e natural. Os objetivos específicos do trabalho foram: a) Disponibilizar uma dieta artificial padrão para a criação de *H. armigera* em laboratório; b) Realizar a caracterização molecular de três populações brasileiras de *H. armigera* com origens distintas; c) Avaliar o desempenho biológico de imaturos de *H. armigera* cujos parentais foram originários de diferentes regiões e hospedeiros em dieta artificial; d) Avaliar o potencial biótico e construir tabelas de vida com indivíduos de *H. armigera* provenientes de diferentes populações em dieta artificial; e) Avaliar a performance de imaturos de *H. armigera* em diferentes estruturas vegetativas e reprodutivas de algodão, milho e soja em comparação com dieta artificial.

Os resultados obtidos neste estudo poderão servir para futuras investigações com este inseto no país e também deverão aprofundar os conhecimentos sobre a interação de populações de *H. armigera* provenientes de diferentes regiões onde se cultiva algodão, milho e soja. Baseado nas diferenças de performance do inseto entre os hospedeiros, os dados poderão auxiliar nas estratégias de manejo a serem implementadas para *H. armigera*.

Para atingir esses objetivos, a tese foi dividida em três capítulos, sendo o primeiro intitulado “Pós-invasão de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): caracterização molecular e biológica de estádios imaturos de diferentes locais e plantas hospedeiras”, o qual foi redigido conforme as normas da revista Florida Entomologist. O segundo foi intitulado “Potencial biótico e tabela de vida de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) de três regiões brasileiras” e foi redigido conforme as normas da revista Neotropical Entomology. O terceiro intitulado “Performance diferencial de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em dieta natural e artificial e sua relação com a composição nutricional” foi redigido conforme as normas da revista Environmental Entomology.

CAPÍTULO I - Pós-invasão de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): caracterização molecular e biológica de estádios imaturos de diferentes locais e plantas hospedeiras.

Revista: Florida Entomologist

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar parâmetros biológicos de estádios imaturos de populações de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), provenientes de diferentes plantas hospedeiras (citros, algodão e milho) das regiões brasileiras: São Paulo, Bahia e Distrito Federal sob condições de laboratório ($T=25\pm1^{\circ}\text{C}$, $70\pm10\%$ U.R. e fotoperíodo=14:10). A análise de PCR revelou coeficientes que variam entre 0,59 e 1, com similaridade elevada entre os indivíduos de São Desiderio (BA) e Botucatu (SP). Uma formulação de dieta artificial foi utilizada e validada durante o experimento de biologia comparada. As viabilidades média das fases larval e de pré-pupa nas três populações mostraram similaridade. A duração média (dias) das pupas fêmeas de seis instares foi de 11,4; 11,6 e 12,0 dias, para as populações de SP, DF e BA, respectivamente. As fêmeas que atingiram o sétimo instar necessitaram de 10,8; 11,9; 11,5 dias. As durações para machos de SP, DF e BA com seis e sete instares foram de 12,8; 13,5; 13,2 e 11,8; 13,2; 13,0 dias, respectivamente. Com relação ao peso de pupas, considerando-se o sexo e o número de instares dentro de cada população, as fêmeas de São Paulo apresentaram a maior média (337,0 mg), diferindo das fêmeas (seis e sete instares) e dos machos (seis instares) do Distrito Federal e das fêmeas (sete instares) da Bahia. O método de criação, bem como o detalhamento dos valores nutricionais da dieta artificial oferecida para as larvas de *H. armigera* durante seu desenvolvimento são adequados, proporcionando o acompanhamento detalhado dos estádios imaturos da espécie.

Palavras-chave: Dieta artificial; desenvolvimento larval; *Helicoverpa armigera*; populações; padronização de criação

Abstract

This study aimed to evaluate biological parameters of immature stages of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) populations from different host plants (citrus, cotton and corn) in the São Paulo, Bahia and Distrito Federal regions of Brazil under laboratory conditions ($T=25\pm1^{\circ}\text{C}$, $\text{UR}=70\pm10\%$; photoperiod=14:10 L:D). PCR analysis revealed coefficients ranging between 0.59 and 1, with high similarity between individuals from São Desiderio, BA and Botucatu, SP. An artificial diet was used and validated during the comparative biology experiment. Samples from each of the ingredients of the artificial diet were analyzed regarding to purity, particle size, and the presence and quantity of aggregates. The average viabilities of the larvae and pre-pupae in the three populations were similar. The average durations of the sixth instar for female pupae were 11.4, 11.6 and 12.0 days for the SP, DF and BA populations, respectively, reaching the seventh instar in 10.8, 11.9, and 11.5 days. The durations of the sixth and seventh instars of males from SP, DF and BA were 12.8, 13.5, and 13.2 and 11.8, 13.2, and 13.0 days, respectively. Considering the sex and number of instars within each population, the females from São Paulo had the highest average pupal weight (337.0 mg), differing from the females (sixth and seventh instars) and males (sixth instars) from Distrito Federal and the females (seventh instars) from Bahia. The rearing method and the nutritional values of the artificial diet offered to larvae of *H. armigera* during development were adequate, and we herein provide an in-depth description of the immature stages of the species.

Keywords: Artificial diet; larval development; old world bollworm; populations standardization of breeding

O registro da ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) em 2013 (Embrapa 2013; Czepak et al. 2013; Specht et al. 2013) ocorreu pelo menos cinco anos após a introdução dessa espécie no Brasil (Sosa-Gómez et al. 2016). No momento da sua detecção (safra 2012/2013), ocorreu um surto populacional da espécie com níveis notáveis em várias culturas, incluindo o algodoeiro, citros, milho, soja e tomate em diferentes regiões do país (Embrapa 2013; Czepak et al. 2013, Specht et al. 2013, Bueno et al. 2014, Pratissoli et al. 2015).

Os registros iniciais foram baseados em amostras obtidas nos estados de Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso e Paraná (Embrapa, 2013, Czepak et al. 2013; Specht et al. 2013). No entanto, o exame dos dados da coleta revelou que espécimes foram coletados no Sul do Brasil e no extremo Norte em 2011 (Sosa-Gómez et al. 2016) e São Paulo em 2012 (Bueno e Sosa-Gómez, 2014). A detecção tardia permitiu que esta espécie gerasse uma grande população que se disseminou por toda a América do Sul. De fato, após o registro no Brasil, o inseto foi detectado na Argentina (Murúa et al. 2014), Paraguai (Paraguai 2014) e Uruguai (Arnemann et al. 2016).

Diversos estudos desde a detecção de *H. armigera* no Brasil têm relatado essas infestações como "populações" coletadas em diferentes regiões e em várias plantas hospedeiras, destacando a ocorrência de diversos haplótipos no Centro-Oeste, Norte e Nordeste do Brasil (Tay et al. 2013; Leite et al. 2014; Mastrangelo et al. 2014). Contudo, permanece desconhecido se a dispersão foi o resultado de múltiplas incursões recentes ou de uma única invasão por diferentes populações de *H. armigera* (Mastrangelo et al. 2014). A inexistência de diversos haplótipos impulsionou estudos visando caracterizar diferentes populações através de características moleculares e biológicas.

Embora vários laboratórios do Brasil tenham tentado manter populações de *H. armigera*, apenas algumas gerações foram alcançadas devido à perda de qualidade genética. As prováveis causas de falha estão relacionadas com a falta de uma dieta padrão ou depressão por endogamia. Vale ressaltar que o objetivo principal da criação em massa a partir de uma dieta artificial é fornecer insetos de qualidade, de forma padronizada e em quantidades desejáveis, mantendo ao mesmo tempo as características naturais da espécie (Parra 2009; Schneider 2009).

Considerando a importância econômica de *H. armigera* para o Brasil em diversas culturas e/ou sistemas de produção, especialmente soja/milho/algodão, este estudo comparou populações de *H. armigera* originárias de três localidades e plantas hospedeiras através de análises genética, utilizando microssatélites para verificar a similaridade genética entre as três populações, além de comparar suas características biológicas. Foi também apresentada uma proposta para padronização e validação de uma dieta artificial para larvas, detalhando os valores nutricionais e metodologia de criação do inseto. Essas informações servirão como base para novos estudos com *H. armigera* sob condições controladas e também para comparações intra e interespecíficas baseadas em dietas naturais e artificiais.

Material e Métodos

ORIGENS DAS POPULAÇÕES DE *H. armigera*

Os indivíduos de *H. armigera* utilizados neste estudo foram obtidos através de coleta em plantações de citros em Botucatu, SP (22°53'09"S; 48°26'42"W), milho em Planaltina, DF (16°04'34,9"S, 47°37'14,8"W) e algodoeiro em São Desidério, BA (12°39'46,1"S, 45°30'33,7"W). As populações foram mantidas individualmente em uma sala climatizada.

A identificação em nível de espécie foi realizada no Laboratório de Entomologia da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, por comparação morfológica da genitália masculina (Pogue 2004).

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR

A caracterização molecular dos insetos foi realizada no Laboratório de Entomologia da Embrapa Soja, Londrina, PR. Foram extraídos o DNA dos machos e fêmeas de cada uma das três populações usando o protocolo de Roger & Bendich (1988).

Marcadores de microssatélites (loci: HaC14, HaB60, HaC87, HarSSR1, HarSSR2, HarSSR3, HarSSR4 and HarSSR5) previamente desenvolvido por Ji et al. (2003) e Scott et al. (2004) foram utilizados para caracterizar as populações de cada localidade. Os produtos de amplificação foram analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 12,5% a 20 V/cm durante 8 h em tampão Tris-glicina. Os géis foram tratados com brometo de etídio (10 mg mL^{-1}) e as bandas foram visualizadas sob luz UV, fotografadas e escaneadas, usando um transiluminador (modelo L-Pix Ex, Loccus Biotecnologia®, Cotia, SP, Brasil) acoplado a um computador pessoal. Os tamanhos dos fragmentos foram estimados por comparação com um marcador de DNA de um “ladder” de 100 pb (GeneRuler, Thermoscientific®, São Paulo, SP, Brasil). As bandas produzidas foram codificadas e dispostas em uma matriz que foi utilizada para construir um dendograma para análise de agrupamento de similaridade de coeficientes utilizando o método UPGMA (Sneath & Sokal 1973) com o software NTsys Pc-2.0. As distâncias entre os pontos de amostragem foram calculadas no site <http://www.movable-type.co.uk/scripts/latlong.html>.

ANÁLISES BIOLÓGICAS

Os testes biológicos comparativos foram realizados no interior de câmaras climatizadas de crescimento tipo BOD ($T=25\pm 1^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R. fotoperíodo=14:10).

Casais das diferentes populações (SP, DF e BA) foram mantidos em gaiolas cilíndricas de cloreto de polivinil (PVC) ($\varnothing = 10 \text{ cm}$ e 20 cm de altura), revestidas com papel marrom (tipo kraft), que serviu como substrato para a oviposição, e recobertas com tecido “voil” na parte superior. As gaiolas foram apoiadas sobre pratos cilíndricos de plástico ($\varnothing = 28 \text{ cm}$). A dieta para os adultos foi fornecida via capilaridade por meio de porções de algodão hidrofílico embebido em solução aquosa de mel a 10% (Flores Silvestres, Alvorada®, Botucatu, SP, Brasil), e água, os quais foram acondicionados sobre o tecido “voil”. Diariamente, o papel e o voil contendo os ovos foram removidos, sendo obtidos 200 ovos de cada população. Porções do substrato com ovos foram cortadas e colocadas em copos de plástico (500 mL) contendo dieta artificial e colocadas em BOD até a eclosão das larvas.

Imediatamente após a eclosão, 100 larvas de cada população (SP, DF e BA) foram colocadas individualmente em placas de Petri ($\varnothing$ = 9,6 cm e 2,1 cm de altura) com aproximadamente 1 cm³ de dieta artificial. A dieta foi reabastecida conforme necessário. Todos os dias, as placas foram limpas, evitando possíveis contaminações.

Durante o desenvolvimento larval, as cápsulas cefálicas foram removidas e armazenadas em placas de Petri ($\varnothing$ =3,5 cm e 1,0 cm de altura) para posterior medição (Podoler & Klein 1978) e confirmação do instar.

A dieta foi removida quando as larvas cessaram a alimentação e apresentaram diminuição do tamanho (típico da fase pré-pupal). Para proporcionar umidade e favorecer a preparação da câmara pupal, adicionou-se 0,5 cm³ de vermiculita expandida umedecida com água destilada em cada placa. Dois dias após a metamorfose, os indivíduos foram pesados usando uma balança semi-analítica (AL-500, Marte Científica®, São Paulo, SP, Brasil) e sexados comparando-se as cicatrizes dos últimos segmentos abdominais das pupas (Kirkpatrick, 1961). Como o sexo só pode ser identificado a partir das pupas, o número de identificação para cada indivíduo (placa) foi mantido em todos os estágios. Isso permitiu comparações entre os sexos, inclusive na fase larval. A manutenção diária das pupas restringiu-se a manter a umidade da vermiculita, aplicando-se algumas gotas de água até a emergência dos adultos.

PARÂMETROS BIOLÓGICOS

Foram realizadas diariamente observações dos indivíduos de cada população (SP, DF e BA) para determinar a duração (dias) do período de incubação dos ovos, do período larval (incluindo pré-pupas), pupas e total, bem como a sobrevivência larval total (%). Também verificou-se o peso pupal, com o auxílio de uma balança semi-analítica (AL-500, Marte Científica®, São Paulo, SP, Brasil). Para cada população, foram avaliados 100 indivíduos e cada placa de Petri contendo uma larva e uma porção da dieta foi considerado uma repetição, seguindo um delineamento inteiramente casualizado.

COMPOSIÇÃO E PREPARAÇÃO DA DIETA ARTIFICIAL

A dieta artificial (baseada em Greene et al. 1976) foi composta por 1.200 mL de água destilada, 75g de feijão branco (Camil[®], Itaqui, RS, Brasil), 60 g de germe-de-trigo (Vida natural, Kodilar[®], São José do Rio Preto, SP, Brasil), 30 g de caseína pura (Synth[®], Diadema, SP, Brasil), 37,5 g de levedo de cerveja (Jasmine[®], Curitiba, PR, Brasil), 30 g de proteína de soja texturizada (Jasmine[®], Curitiba, PR, Brasil), 3,6 g de ácido ascórbico ($C_6H_8O_6$) (Synth[®], Diadema, SP, Brasil), 114 mg de cloridrato de tetraciclina (Medquímica[®], Juiz de Fora, MG, Brasil), 3,4 mL de formaldeído 40% (CH_2O) (Chemco[®], Hortolândia, SP, Brasil), 3,6 g de metilparabeno (nipagin) ($C_8H_8O_3$) (Synth[®], Diadema, SP, Brasil), 1,8 g de ácido sórbico ($C_6H_8O_2$) (Dynamic Chemical Contemporânea[®], Diadema, SP, Brasil), 9 mL de solução de vitaminas (Vita Jr., União Química[®], São Paulo, SP, Brasil) e 23 g de agar-agar (Synth[®], Diadema, SP, Brasil).

Os grãos de feijão foram cozidos durante 40 minutos em uma panela de pressão (4,5 L) com 500 mL de água, drenados e triturados num misturador (18.000 rpm) durante 10 minutos com 600 mL de água destilada. Em seguida, o germe-de-trigo, a caseína, o levedo de cerveja e a proteína de soja foram adicionados gradualmente até que uma massa homogênea se formasse. Em um recipiente de aço inoxidável, o agar-agar foi dissolvido em 500 mL de água destilada quente (aproximadamente ao ponto de ebulição) para obtenção de uma consistência gelatinosa. A mistura de feijão acima foi transferida para o recipiente contendo o agar-agar e misturada durante aproximadamente cinco minutos.

Os ingredientes remanescentes (ácido ascórbico, ácido sórbico, nipagin, formaldeído, cloridrato de tetraciclina e a solução de vitaminas) em conjunto com 100 mL de água destilada restante, foram misturados em um misturador durante aproximadamente dois minutos (18.000 rpm) com a mistura de feijão acima arrefecida previamente a 60°C. A seguir, quando a formulação atingiu aproximadamente 40°C, foi acondicionada em caixas plásticas tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), as quais foram imediatamente colocadas sob luz U.V. em câmara de fluxo laminar até se atingir uma temperatura de aproximadamente 25°C. As caixas foram então seladas, identificadas e

refrigeradas (5°C) até serem utilizadas. Usando uma espátula de aço inoxidável, a dieta foi cortada em cubos de aproximadamente 1 cm³ antes de ser oferecida às larvas de *H. armigera*.

ANÁLISE CENTESIMAL DA DIETA ARTIFICIAL

A análise centesimal da dieta artificial foi realizada pelo Centro de Qualidade Analítica (CQA®) em Campinas, SP. Foram realizadas análises físicas e químicas para obter informações detalhadas sobre os principais macro e micronutrientes da dieta artificial. Os métodos utilizados foram propostos pela AOAC (2010) e pela FDA (2010), seguindo a Resolução RCD nº 360 (RCD 360/2003-Brasil).

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os parâmetros biológicos obtidos para cada população foram analisados utilizando o pacote estatístico Proc GLIMMIX (SAS Institute 2008). Quando o teste F foi significativo ($P \leq 0,05$), as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey.

Resultados

COMPARAÇÃO DOS MARCADORES DE MICROSSATÉLITES

A variabilidade genética das três populações, conforme determinado pela amplificação de PCR usando loci de sete microssatélites (método do coeficiente de Dice) e baseada na presença ou ausência de bandas de SSR, revelou coeficientes variando entre 0,59 e 1. Alta similaridade foi encontrada entre os indivíduos de São Desidério, BA e Botucatu, SP (Fig. 1). Este resultado não indicou diferenças genéticas entre as populações geográficas de *H. armigera* coletadas em SP, DF e BA.

COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS

Não houve diferença ($F = 12,63$; $gl = 2$; $P = 0,2934$) no período de incubação dos ovos para as três populações estudadas e a viabilidade de ovos variou de 62,00% (SP) a 73,00% (BA) (Tabela 1). A população de São Paulo apresentou o maior período larval médio (14,2 dias) ($F = 7,33$; $gl = 2$; $P = 0,0011$), diferindo da população do Distrito Federal (13,8 dias). Em termos absoluto, a maior taxa de sobrevivência foi observada na população do Distrito Federal (83,00%).

Com relação ao período pré-pupal (Tabela 1), a população da Bahia diferiu das demais ($F = 24,17$; $gl = 2$; $P = 0,0003$), com o menor valor médio (2,0 dias). Esta população também apresentou a mais alta sobrevivência (100,00%). Não houve diferença ($F = 4,69$; $gl = 2$; $P = 0,1374$) na fase pupal para as três populações. As taxas de sobrevivência pupal entre as populações variaram de 89,04% (SP) a 100,00% (BA). Considerando o período de desenvolvimento total (ovo a adulto), não houve diferença entre as populações ($F = 2,87$; $gl = 2$; $P = 0,0523$) e a duração média foi de aproximadamente 31 dias. Observou-se maior sobrevivência total na população da Bahia (56,00%), seguida das populações do Distrito Federal (52,00%) e São Paulo (40,00%).

Considerando o sexo e o número de indivíduos de cada população (Tabela 2), observou-se maior duração do desenvolvimento larval ($F = 47,22$; $gl = 11$; $P = 0,0001$) para a população de São Paulo (15,67 dias para os machos de sete instares e 15,6 dias para as fêmeas de sete instares) em comparação com os outros grupos. Uma exceção foram as fêmeas de sete instares da Bahia (14,83 dias). Com relação à fase pré-pupal, observou-se maior tempo ($F = 5,17$; $gl = 11$; $P = 0,0001$) para as fêmeas (sexto e sétimo instares) e machos (sete instares) de São Paulo, machos (seis e sete instares) do Distrito Federal e machos (seis instares) da Bahia. Os machos (seis instares) provenientes da Bahia mostraram a menor média (1,50 dias) de duração nessa fase.

Para o estágio pupal (Tabela 2), os machos (seis e sete instares) da população do Distrito Federal apresentaram a maior duração média (13,5 e 13,3 dias, respectivamente), diferindo ($F = 14,26$; $gl = 11$; $P = 0,0001$) das fêmeas (seis e sete instares) e machos (sete instares) de São Paulo, das fêmeas (seis instares) do Distrito

Federal e das fêmeas (sete instares) da Bahia. Com relação à duração total do estágio imaturo, os machos (sete instares) de São Paulo apresentaram maior duração média ($F = 9,66$; $gl = 11$; $P = 0,0001$), diferindo das fêmeas (seis instares) do Distrito Federal e das fêmeas (sete instares) da Bahia.

Considerando o sexo e o número de instares de cada população (Tabela 3), as fêmeas (sete instares) de São Paulo apresentaram o maior peso médio de pupas (337,0 mg), diferindo ($F = 12,94$; $gl = 3$; $P = 0,0001$) das fêmeas (seis e sete instares) e dos machos (sete instares) do Distrito Federal e das fêmeas (sete instares) da Bahia. Com base nas médias gerais, as pupas da população de São Paulo apresentaram maior peso (324,0 mg), diferindo dos insetos provenientes do Distrito Federal (282,0 mg) e da Bahia (296,0 mg).

As curvas de medições da cápsula cefálica ao longo dos instares (Fig. 2) mostraram crescimento exponencial semelhante entre as populações. Os valores médios das cápsulas cefálicas variaram de 1,93, 1,90 e 1,95 μm durante o primeiro instar a 20,00, 19,80 e 20,20 μm no último instar para indivíduos de SP, DF e BA, respectivamente.

ANÁLISE CENTESIMAL DA DIETA

A análise centesimal da dieta artificial (Tabela 4) indicou diferentes quantidades de componentes, especialmente macronutrientes. A presença dos açúcares adonitol, arabinase, arabitol, celobiose, frutose, galactose, glicose, inositol, lactitol, maltitol, maltose, maltotriose, manitol, manose, melezitose, melibiose, rafinose, sorbitol, trealose, turanose, xilitol ou xilose não foi detectada [AOAC/FQ-0093⁽¹⁾]. Entre os macronutrientes proeminentes destacaram os carboidratos (8,1 g/100g por amostra), seguido de proteínas totais (5,3 g/100g por amostra) e gorduras totais (0,72 g/100 por amostra) (Tabela 4).

Análises adicionais indicaram uma acidez livre de 5,61% [AOAC/FQ-0105⁽¹⁾] e acidez volátil de 3,37 g/100g (ácido acético) [AOAC/FQ-0068⁽¹⁾].

Discussão

Ao contrário do relatado por Subramanian & Mohankumar (2006), os primers amplificadores do loci HarSSR2 geraram bandas polimórficas nas diferentes populações. No entanto, os primers que amplificam os loci HarSSR4 e HarSSR4 produziram bandas monomórficas para as populações de *H. armigera* no Brasil.

A análise de agrupamento da similaridade entre populações de locais distantes (Fig. 1) não indicou distribuição de genótipos associados a um local específico. Indivíduos semelhantes estavam presentes em locais remotos, como Botucatu (SP) e São Desidério (BA), que estão separados por 1.178 km, ou mais próximo, como Planaltina (DF) e São Desidério (BA), separadas por 443 km. Embora as populações sejam compostas de indivíduos coletados de diferentes plantas hospedeiras e em locais distantes, não foram observadas diferenças entre os genótipos, como também relatado por Subramanian & Mohankumar (2006). Essa similaridade pode ser atribuída à capacidade de dispersão (Feng et al. 2004) e ao curto período de expansão dos indivíduos na região neotropical, conforme relatado por Murúa et al. (2016) e Sosa-Gómez et al. (2016).

Embora as comparações moleculares tenham detectado pequenas variações nos parâmetros biológicos de *H. armigera* das três populações, os resultados sugerem proximidade biológica entre os grupos. Esse resultado indica uma única origem no Brasil, como já discutido anteriormente na literatura (Leite et al. 2014, Mastrangelo et al. 2014, Sosa-Gómez et al. 2016).

Independentemente da origem dos indivíduos de *H. armigera* no Brasil, foi observado um período de incubação dos ovos de três dias, semelhante ao período assinalado por outros autores, em que os insetos foram criados com dieta artificial, híbridos de milho doce e folhas de aspargos (Jha et al. 2014), botões de roseira (Patel et al. 2011) e feijoeiro (Naseri et al. 2014).

A duração média do estágio larval (13,4 a 14,2 dias) das populações de *H. armigera* no presente estudo é próxima daquelas relatadas por outros autores que também avaliaram a biologia do inseto em dieta artificial (Amer e El Sayed, 2014). Entretanto, períodos maiores foram verificados quando larvas de *H. armigera* foram

alimentadas com milho doce (18,3 dias) e dieta artificial (19,5 dias) (Jha et al. 2012) e feijão (19,8 dias) (Naseri et al. 2014). Estas variações estão provavelmente relacionadas com a diferença no fornecimento de energia e/ou constituição da dieta oferecida às larvas (Awmack e Leather 2002), bem como às condições ambientais presentes (Zalucki et al. 2002).

Com relação ao período pré-pupal (2,0 a 2,9 dias) registrado para as três populações de *H. armigera*, a duração foi semelhante à obtida em botões de rosa (Patel et al. 2011) e cultivares de feijão (Naseri et al. 2014) com 2,3 e 2,4 dias, respectivamente. No entanto, a duração foi mais longa do que à obtida em tomate (Singh e Singh 1975), que variou de um a dois dias. Busato et al. (2005) ressaltam que indivíduos de uma mesma espécie podem apresentar pequenas variações de duração nas diferentes fases do ciclo, mesmo recebendo a mesma fonte alimentar, o que pode explicar a menor duração da população da Bahia (2,0 dias) em comparação com as outras populações.

O período pupal de *H. armigera* foi estável entre as três populações, com aproximadamente 12 dias de duração. Estes resultados são semelhantes aos encontrados com o inseto em outros hospedeiros, como feijão (Naseri et al. 2014) e milho (Arghand 2011), com médias de 12 a 13 dias. A similaridade da duração da fase pupal de indivíduos criados em dieta artificial e natural indica a adequação da primeira na produção de indivíduos de *H. armigera*.

Considerando o período imaturo total para as três populações, a duração (aproximadamente 31 dias) também foi semelhante em feijão (Naseri et al. 2014), porém inferior àquelas relatadas em soja, com 42,7 dias (Fathipour e Naseri 2011) e tomate, com 45,3 dias (Hemati et al. 2012). Com base nessas informações, sugere-se que a produção de *H. armigera* a partir da dieta artificial utilizada neste estudo pode fornecer indivíduos mais rapidamente em relação a algumas dietas naturais, enfatizando a importância desta técnica em estudos com essa espécie de lepidóptero.

A medição da cápsula cefálica foi importante para a confirmação dos estádios larvais dos indivíduos das três populações. Independentemente da população, os valores mostraram crescimento exponencial durante os instares, semelhante ao relatado por outros autores que mediram cápsulas cefálicas de imaturos de *H. armigera* por até 10

gerações (Mohammadi et al. 2010). De acordo com Dyar (1890), a cápsula cefálica de uma larva cresce em progressão geométrica, aumentando em largura a cada mudança, em uma proporção constante para cada espécie. O mesmo autor afirma que esta regra é aplicada igualmente a muitos outros parâmetros do corpo de inseto, como peso corporal, comprimento das larvas e diâmetro dos olhos. Assim, o estudo morfométrico de diferentes partes do corpo do inseto realizado no presente trabalho é relevante para se obter um índice preciso para distinguir diferentes estádios larvais da espécie estudada (Mohammadi et al. 2010).

Observou-se que as larvas de *H. armigera* passaram por até sete instares, independentemente da origem do inseto. Isto é semelhante ao relatado por Jha et al. (2014), que confinaram o inseto em folhas de aspargos. No entanto, houve um predomínio de indivíduos com seis instares entre as três populações, confirmando os dados de Hardwick (1965), que descreveram variações de cinco a sete instares para as espécies de *Helicoverpa*, sendo seis instares o número mais comum. A prevalência de seis instares em *H. armigera* também foi relatada em ensaios com feijão guandu (Borah e Dutta 2002), milho doce (Arghand 2011), dieta artificial (Jha et al. 2012), feijão branco e grão-de-bico (Razmjou et al. 2014).

A ocorrência de apenas cinco instares em *H. armigera* também foi documentada na literatura (Lokar et al. 1993, Saour Causse, 1996, Fathipour e Naseri 2011, Hosseininejad et al. 2015, Reigada et al. 2016,) e, segundo Esperk et al. (2007), a temperatura, fotoperíodo e umidade, além da quantidade e qualidade do alimento oferecido, são os principais responsáveis por tais variações. Razmjou et al. (2014) sugerem que a variação no número de estádios larvais pode estar relacionada à herança genética e ao sexo das larvas de *H. armigera*. Nossos resultados corroboram parcialmente isso, porque a proporção de indivíduos com seis instares foi maior para as fêmeas do que para os machos, exceto para a população da Bahia, para a qual outros fatores podem ter sido importantes.

Diferenças quanto ao peso de pupas, períodos larval, pré-pupal e pupal entre indivíduos machos e fêmeas são comumente observadas em espécies de Noctuidae, como por exemplo no gênero *Spodoptera*. Estudos com *S. cosmioides* (Walker)

(Bavaresco et al. 2002) e *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Nagoshi 2011) em dieta artificial também indicaram diferenças de peso entre pupas macho e fêmea. As diferenças entre os sexos no período larval e no peso pupal também foram documentadas para *S. exigua* (Hübner), alimentadas em diferentes hospedeiros (Farahani et al. 2011).

Os valores médios de peso das pupas (aproximadamente 300 mg) obtidos neste estudo são semelhantes aos descritos para os indivíduos de *H. armigera* alimentados com milho (355,6 mg), grão-de-bico (322,6 mg) e dieta artificial (305,9 mg) (Serate et al. 2012). No entanto, estes estudos anteriores não mencionam a diferença entre o peso de pupas macho e fêmea. Stillwell et al. (2010) descreveram que as fêmeas dos lepidópteros são geralmente maiores do que os machos e que há diferenças consideráveis no sexo dentro das populações de uma mesma espécie. Diferenças quanto à origem também foram observadas em nosso estudo, onde os indivíduos de São Paulo apresentaram maior peso pupal do que as demais populações. Outra diferença ligada ao sexo já foi observada em indivíduos de *H. armigera*, onde o maior peso pupal foi encontrado para os machos em comparação com as fêmeas alimentadas em diferentes hospedeiros (Chen et al. 2014, Reigada et al. 2016).

Estudos anteriores correlacionaram a qualidade nutricional de diferentes dietas naturais e artificiais quanto aos padrões de desenvolvimento de larvas de *H. armigera*. Por exemplo, *H. armigera* alimentando-se de dietas ricas em proteínas e carboidratos (feijão guandu, grão-de-bico, milho e sorgo) demonstrou maior peso larval comparado com indivíduos alimentados com dieta artificial. As larvas alimentadas com tomate e quiabo (dieta hipocalórica) apresentaram menor peso larval, enquanto que as larvas alimentadas com dietas com baixíssimo valor calórico (flores de rosa e calêndula) apresentaram uma maior mortalidade (Serate et al. 2007).

No presente estudo, os ingredientes da dieta foram bem determinados e passaram por análises físicas e químicas para a obtenção de informações detalhadas quanto aos dos principais macro e micronutrientes. Isso torna possível, em estudos futuros, a comparação com outras dietas artificiais e naturais. Os aspectos relativos à pureza, ao tamanho das partículas e à presença e quantidade de agregados são relevantes. Por exemplo, a maioria das formulações das dietas incluem a proteína de soja. No entanto, a

proteína de soja pode ser encontrada em formas texturizadas, concentradas e isoladas, com proporções de proteína total aproximadas de 50, 70 e 90%, respectivamente. Esta variável pode influenciar o desenvolvimento de insetos quanto à proteína bruta, que é a principal fonte de nitrogênio.

Outras variações podem ocorrer também com as fontes de feijão, caseína e germe-de-trigo, entre outras. Outros elementos essenciais, como cinzas e microelementos, devem ser também avaliados para cada inseto e permitem comparações entre dietas naturais e artificiais. Além disso, os diferentes componentes desempenham papéis importantes e diferentes na nutrição do inseto. A presença de carboidratos, que inclui principalmente açúcares redutores e fibras dietéticas é importante para a dieta do inseto, especialmente aqueles compostos com ligações alfa-glicosídicas, como a maltose, já que sua oxidação fornece energia para a maioria dos processos vitais. No entanto, os açúcares redutores, como a lactose, que transporta ligações beta-glicosídicas, dificultam a sua digestão (Cohen 2004; Parra 2009).

Na dieta utilizada neste estudo, as fibras totais representaram 39, 5% dos carboidratos totais. Alguns insetos, especialmente mastigadores, não se desenvolvem adequadamente se a quantidade de fibra é baixa (menos de 50% dos carboidratos) (Cohen 2004; Parra 2009). A fibra solúvel torna-se um gel quando em contato com água, contribuindo para a textura e características das dietas, e pode ser útil para comparar e avaliar a digestibilidade e a capacidade com relação à taxa do trânsito de alimentos no intestino. As fibras insolúveis possuem capacidade de retenção de água, sem formação do gel. A maioria dos insetos não digere essas fibras, contudo, devido à sua capacidade de retenção de água, estas fibras são úteis para promover a mobilidade intestinal e absorver toxinas e bactérias nocivas. No caso das proteínas, os insetos requerem o nitrogênio nas proteínas para o seu desenvolvimento. As proteínas são divididas em aminoácidos e moléculas menores com a finalidade de construir os tecidos; as proteínas têm funções biológicas associadas às atividades vitais, de acordo com sua estrutura molecular (Cohen 2004, Parra 2009). Na dieta avaliada, a proporção de proteína total (5,3 g/100g por amostra) foi maior que a do nitrogênio total (0,85 g/100g por amostra), garantindo a presença da proteína para funções biológicas. Deve-se notar que muitos

dos ingredientes (proteína de soja, feijão, caseína, germe-de-trigo) apresentam o tipo de proteínas que foram quantificadas em conjunto na análise. A análise lipídica da dieta se concentrou principalmente na determinação de gorduras totais e ácidos graxos livres, sendo os últimos importantes para os insetos porque são moléculas pequenas, facilmente metabolizadas. Além disso, para os insetos a importância dos lipídios deve-se à sua influência sobre a estabilidade da dieta, sendo que, podem facilmente oxidar e produzir substâncias tóxicas indesejáveis. A este respeito, a quantidade presente de gorduras insaturadas na dieta (Tabela 4) é indesejável (Cohen 2004; Parra 2009) e deve ser considerada.

Neste estudo, as larvas de *H. armigera* se adaptaram bem à dieta, permitindo comparar o desempenho biológico das populações de São Paulo, Distrito Federal e Bahia coletada em diferentes hospedeiros. Esta informação permite a padronização da criação de insetos, independentemente da origem de coleta. As pequenas variações observadas para alguns parâmetros biológicos podem ser comuns e confirmam os resultados obtidos com outros lepidópteros. Nossas análises moleculares corroboram resultados já publicados (Leite et al. 2014, Mastrangelo et al. 2014, Sosa-Gómez et al. 2016), que indicam que as três populações de *H. armigera* também são provenientes de uma única população.

Agradecimentos

À Coordenação de Pessoal de Educação Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos concedida ao primeiro autor. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas Bolsas de Produtividade em Pesquisa (processos nº 303892/2016-1 e nº 308947/2014-2) concedidas ao segundo e quarto autores, respectivamente e pelo auxílio à pesquisa (processos nº 403376/2013-0, 476691/2013-3, 47304/2013-8). À EMBRAPA, pelo auxílio à pesquisa (processo nº 02.13.14.006).

Referências Citadas

- Abbasi B, Ahmed K, Khalique F, Ayub N, Liu H, Kazmi S, Aftab M. 2007. Rearing the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, on a tapioca-based artificial diet. *Journal of Insect Science* 7: 1-7.
- Amer AEA, El-Sayed AAA. 2014. Effect of different host plants and artificial diet on *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) development and growth index. *Journal of Entomology* 11: 299-205.
- AOAC. 2010. Official methods of analysis, 18th edition, Maryland/USA; Current Through – Revision 3.
- Arghand A, Naseri B, Razmjou J, Hassanpour M. 2011. Feeding indices of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on seed of five different maize hybrids, pp. 5–9 *In*: Proceedings of global conference on entomology, Chiang Mai, Thailand.
- Arnemann JA, James WJ, Walsh TK, Guedes JVC, Smagghe G, Castiglioni E, Tay WT. 2016. Mitochondrial DNA COI characterization of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Paraguay and Uruguay. *Genetics and Molecular Research* 15: 1-8.
- Ávila JC, Vivian LM, Tomquelski GV. 2013. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. *Embrapa Agropecuária Oeste* 23: 1-12.
- Awmack CS, Leather SR. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47: 817-844.
- Bavaresco A, Garcia MS, Grützmacher AD, Foresti J, Ringenberg R. 2002. Biologia e exigências térmicas de *Spodoptera cosmioides* (Walk.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotropical Entomology* 31: 49-54.
- Behere GT, Tay WT, Russell DA, Batterham P. 2008. Molecular markers to discriminate among four pest species of *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bulletin of Entomological Research* 98: 599-603.

- Borah SR, Dutta SK. 2002. Biology of gram pod borer, *Helicoverpa armigera* (Hub.) on *Pigeon Pea*. *Journal of Agricultural Science* 15: 34-37.
- Bueno RCOF, Yamamoto PT, Carvalho MM, Bueno NM. 2014. Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) on citrus in the state of Sao Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Fruticultura* 36: 520-523.
- Bueno AF, Sosa-Gómez DR. 2014. The Old World bollworm in the Neotropical region: the experience of Brazilian growers with *Helicoverpa armigera*. *Outlooks on Pest Management* 25: 261-264.
- Busato GR, Grützmacher AD, Garcia MS, Giolo FP, Zott MJ, Stefanello GJJr. 2005. Biologia comparada de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho e arroz. *Neotropical Entomology* 34: 743-750.
- Chen C, Xia Q-W, Xiao H-J, Xiao L, Xue F-S. 2014. A comparison of the life-history traits between diapause and direct development individuals in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Journal of Pest Science* 14: 1-12.
- Cohen AC. 2004. *Insect Diets: Science and Technology*. CRC Press Second, New York, 324p.
- Czepak C, Albernaz KC, Vivan LM, Guimarães HO, Carvalhais T. 2013. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 43: 110-113.
- Dyar HG. 1890. The number of molts of Lepidopterous larvae. *Psyche* 5: 420-422.
- Embrapa. 2013. Nota técnica sobre resultado do trabalho inicial de levantamento da lagarta do gênero *Helicoverpa* – detecção da espécie *Helicoverpa armigera* no Brasil. Nota técnica. Planaltina: Embrapa Cerrados.
- Esperk T, Tammaru T, Nylin S. 2007. Intraspecific variability in number of larval instars in insects. *Journal of Economic Entomology* 100: 627-645.
- Farahani S, Naseri B, Talebi AA. 2011. Comparative life table parameters of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae) on five host plants. *Journal of the Entomological Research Society* 13: 91-101.

- Fathipour Y, Naseri B. 2011. Soybean cultivars affecting performance of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) pp. 599–630 *In*: Ng, T.B. [ed.], Soybean biochemistry, chemistry and physiology. Croatia.
- Feng HQ, Wu KM, Cheng DF, Guo YY. 2004. Northward migration of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and other moths in early summer observed with radar in northern China. *Journal of Economic Entomology* 97: 1874–1883.
- FDA–Food And Drug. 2010. Administration. elemental analysis manual. United States of America. Section 4, 4 Inductively coupled plasma? Atomic emission spectrometric determination of elements in food using microwave assisted digestion.
- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology* 69: 447-448.
- Hardwick D. 1965. The corn earworm complex. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*. 97: 107-116.
- Hemati SA, Naseri B, Nouri-Ghanbalani G, Rafiee-Dastjerdi H, Golizadeh A. 2012. Effect of different host plants on nutritional indices of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. *Journal of Pest Science* 12: 1-15.
- Hosseinienejad AS, Naseri B, Razmjou J. 2015. Comparative Feeding Performance and digestive physiology of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae-fed 11 corn hybrids. *Journal of Pest Science* 15: 1-6.
- Ji YJ, Zhang DX, Hewitt GM, Kang L, Li DM. 2003. Polymorphic microsatellite loci for the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and some remarks on their isolation. *Molecular Ecology Notes* 3: 102-104.
- Jha RK, Chi H, Tang LC. 2012. A comparison of artificial diet and hybrid sweet corn for the rearing of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) based on life table characteristics. *Environmental Entomology* 41: 30-39.
- Jha RK, Tuan S-J, Chi H, Tang L-C. 2014. Life table and consumption capacity of corn earworm, *Helicoverpa armigera*, fed asparagus, *Asparagus officinalis*. *Journal of Pest Science* 14: 1-17.
- Kirkpatrick TH. 1961. Comparative morphological studies of *Heliothis* species (Lepidoptera: Noctuidae) in Queensland. *Journal of Agricultural Science* 18: 179-194.

- Leite NA, Alves-Pereira A, Corrêa AS, Zucchi MI, Omoto C. 2014. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. PLoS One 9: 1-9.
- Lokar MK, Rahoo GM, Rind AW. 1993. Effect of food plants on the development of cutworm species, *Heliothis armigera* (Hübner) and *Spodoptera litura* F, pp. 225-233 In: Ahmed, M., Sakoori, A.R. [ed.] Proceedings of Pakistan Congress of Zoology, Publications of Zoological Society of Pakistan.
- Mastrangelo T, Paulo DF, Bergamo LW, Morais EG. 2014. Detection and genetic diversity of a *Heliothine* invader (Lepidoptera: Noctuidae) from north and northeast of Brazil. Journal of Economic Entomology 107: 970-980.
- Mohammadi D, Abad RFP, Rashidi MR, Mohammadi SA. 2010. Study of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) using Dyar's rule. Munis Entomology & Zoology 5: 216-224.
- Murúa MG, Scalora FS, Navarro FR, Cazado LE, Casmuz A, Villagrán ME, Lobos E, Gastaminza G. 2014. First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. Florida Entomology 97: 854-856.
- Murúa MG, Cazado LE, Casmuz A, Herrero MI, Villagran ME, Vera A, Sosa-Gómez DR, Gastaminza G. 2016. Species from the *Heliothinae* complex (Lepidoptera: Noctuidae) in Tucuman, Argentina, an update of geographical distribution of *Helicoverpa armigera*. Journal of Pest Science 61: 1-7.
- Nagoshi RN. 2011. Artificial selection for developmental rates in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and its implications on the design of feeding studies. Annals of the Entomological Society of America 104: 88-94.
- Naseri B, Golparva B, Razmjou J, Golizadeh A. 2014. Age-stage, two-sex life table of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on different bean cultivars. Journal of Agricultural Science and Technology 16: 19-32.
- Paraguay. Servicio nacional de calidad y sanidad vegetal (Senave). 2014. Paraguay: Asunción. Disponível em: <http://www.senave.gov.py/noticias-85-SENAVE-reafirma-su-autoridad-en-materia-fitosanitaria.html>. (Acesso 15 janeiro 2016).

- Parra JRP. 2009. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia, pp 91-174 *In* Panizzi, AR & Parra JRP [ed.] Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de Pragas. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília.
- Patel RS, Patel KA, Patil KS, Toke NR. 2011. Biology of *Helicoverpa armigera* Hub. on rose in laboratory condition. *Pest Management in Horticultural Ecosystems* 17: 144-148.
- Podoler H, Klein M. 1978. Distance between frontal setae: a new tool for determining caterpillar instars. *Journal of Natural History* 12: 341-347.
- Pogue MG. 2004. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae). *Annals of the Entomological Society of America* 97: 1222-1226.
- Pratissoli D, Lima VLS, Pirovani VD, Lima WL. 2015. Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on tomato in the Espírito Santo state. *Horticultura Brasileira* 33: 101-105.
- Razmjou J, Naseri B, Hemati SA. 2014. Comparative performance of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. *Journal of Pest Science* 87: 29–37.
- RDC360/2003 – BRASIL. Resolução RCD nº 360, 2003. Aprova regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional, da agência nacional de vigilância sanitária. Diário oficial, Brasília.
- Reigada C, Guimarães KF, Parra JRP. 2016. Relative fitness of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on seven host plants: A perspective for IPM in Brazil. *Journal of Pest Science* 16: 1-5.
- Rogers SO, Bendich AJ. 1988. Extraction of DNA from plant tissues, pp.1-10 *In* Gelvin SV, Schilperoort RA, Verma DPS [ed.], *Plant molecular biology manual*. Dordrecht: Kluwer Academic.
- Saour G, Causse R. 1996. Feeding behavior of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on Tomatoes. *Journal of Applied Entomology* 120: 87-92.
- SAS INSTITUTE. 2001. SAS/STAT user's guide, version 8.1. SAS Institute, Cary.

- Serate PJ, Tamhane VA, Kotkar HM, Ratnakaran N, Susan N, Gupta VS, Giri AP. 2012. Developmental and digestive flexibilities in the midgut of a polyphagous pest, the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Journal of Pest Science* 12: 1-16.
- Schneider JC. 2009. Principles and procedures for rearing high quality insects Mississippi State University, 352p.
- Scott KD, Lange CL, Scott LJ, Graham GC. 2004. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Molecular Ecology Notes* 4: 204-205.
- Singh H, Singh G. 1975. Biological studies on *Heliothis armigera* (Hübner) in Punjab. *Indian Journal of Entomology* 34: 154–164.
- Sosa-Gómez DR, Specht A, Paula-Moraes SV, Lopes-Lima A, Yano SAC, Micheli A, Morais EGF, Gallo P, Pereira PRVS, Salvadori JR, Botton M, Zenker MM, Azevedo-Filho Wilson S. 2016. Timeline and geographical distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliiothinae) in Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 60: 101-104.
- Subramanian S, Mohankumar S. 2006. Genetic variability of the bollworm, *Helicoverpa armigera*, occurring on different host plants. *Journal of Pest Science* 6: 1-8.
- Sneath PH, Sokal RR. 1973. Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification, ed. Freeman and company, San Francisco, 540p.
- Specht A, Sosa-Gómez DR, Paula-Moraes SVD, Yano SAG. 2013. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 48: 689-692.
- Stillwell RC, Blanckenhorn WU, Teder T, Davidowitz G, Fox CW. 2010. Sex differences in phenotypic plasticity affect variation in sexual size dimorphism in insects: from physiology to evolution. *Annual Review of Entomology* 55: 227-245.
- Tay WT, Soria MF, Walsh T, Thomazoni D, Silvie P, Behere GT, Anderson C, Downes S. 2013. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Plos One* 8: 1-7.

Zalucki MP, Clarke AR, Malcolm SB. 2002. Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 47: 361–393.

Tabela 1. Duração média ($\pm$ EP) (dias) e sobrevivência (%) de estádios imaturos de três populações de *Helicoverpa armigera* alimentadas com dieta artificial em condições controladas ($25\pm 2^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R. e fotofase 14h).

Fase	N	SP		N	DF		N	BA		P
		Duração (dias) ^a	Sobrevivência (%)		Duração (dias) ^a	Sobrevivência (%)		Duração (dias) ^a	Sobrevivência (%)	
	inicial/ Final			inicial/ final			inicial/ Final			
Ovo	200/124	2,9 $\pm$ 0,41a	62,00	200/140	2,8 $\pm$ 0,52a	70,00	200/146	2,9 $\pm$ 0,24a	73,00	$P=0,2934$
Larva	100/74	14,2 $\pm$ 1,68a	74,00	100/83	13,4 $\pm$ 0,98b	83,00	100/77	13,9 $\pm$ 0,56ab	77,00	$P=0,0011$
Pré-pupa	74/73	2,9 $\pm$ 0,99a	98,65	83/80	2,5 $\pm$ 1,04a	96,39	77/77	2,0 $\pm$ 0,92b	100,00	$P=0,0003$
Pupa	73/68	11,9 $\pm$ 1,36a	89,04	80/75	12,3 $\pm$ 1,23a	93,75	77/77	12,5 $\pm$ 1,11a	100,00	$P=0,1374$
Total	100/40	31,9 $\pm$ 4,52a	40,00	100/52	31,2 $\pm$ 3,45a	52,00	100/56	31,2 $\pm$ 3,23a	56,00	$P=0,0523$

^a Médias seguidas pela mesma letra em cada linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela 2. Duração média ($\pm$ EP) da fase imatura de três populações de *Helicoverpa armigera*, com discriminação sexual, desenvolvendo-se durante seis e sete instares em dieta artificial sob condições controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ U. R. e fotofase de 14h).

Sexo	Instares	N	Larva (dias) ^a	Pré-pupa (dias) ^a	Pupa (dias) ^a	Total imaturo (dias) ^a
São Paulo						
Fêmea	6	21	$13,9 \pm 1,17a$	$2,9 \pm 0,66b$	$11,4 \pm 1,12ab$	$31,0 \pm 1,56ab$
	7	9	$15,6 \pm 1,01b$	$3,0 \pm 0,87b$	$10,8 \pm 1,20a$	$32,3 \pm 1,12bc$
Macho	6	22	$13,4 \pm 1,14a$	$2,7 \pm 0,71ab$	$12,8 \pm 0,96bcdef$	$31,9 \pm 1,21abc$
	7	9	$15,7 \pm 2,00b$	$3,2 \pm 0,83b$	$11,8 \pm 1,99abcd$	$33,6 \pm 1,12c$
Distrito Federal						
Fêmea	6	27	$13,3 \pm 0,67a$	$2,0 \pm 0,86ab$	$11,6 \pm 1,02abc$	$29,8 \pm 0,27a$
	7	8	$13,5 \pm 1,80a$	$2,6 \pm 1,06ab$	$11,9 \pm 2,25abcde$	$30,9 \pm 0,35ab$
Macho	6	20	$13,4 \pm 0,80a$	$2,8 \pm 1,06b$	$13,5 \pm 1,26f$	$32,5 \pm 0,32bc$
	7	11	$13,7 \pm 1,35a$	$2,9 \pm 0,95b$	$13,3 \pm 2,12ef$	$32,8 \pm 1,21bc$
Bahia						
Fêmea	6	31	$13,8 \pm 0,63a$	$2,1 \pm 1,01ab$	$12,0 \pm 0,93abcdef$	$30,8 \pm 1,73ab$
	7	6	$14,8 \pm 2,56ab$	$2,7 \pm 1,76ab$	$11,5 \pm 1,64ab$	$32,0 \pm 3,29abc$
Macho	6	26	$13,6 \pm 0,57a$	$1,5 \pm 0,70a$	$13,2 \pm 0,89cdef$	$31,2 \pm 1,44ab$
	7	4	$14,0 \pm 0,81a$	$2,8 \pm 0,50ab$	$13,0 \pm 0,81bcdef$	$32,7 \pm 0,96bc$
<i>P</i>			<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

^a Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Média ($\pm$ EP) do peso (mg) de pupas de três populações de *Helicoverpa armigera*, com separação por sexo, criadas em dieta artificial de acordo com o número de instares (seis ou sete), ($25\pm 2^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R. e fotofase de 14 h).

Sexo	Instar	SP	DF	BA
		Peso (mg)	Peso (mg)	Peso (mg)
Fêmea	6	332,0 $\pm$ 34,00bc	275,0 $\pm$ 28,00 a	299,0 $\pm$ 36,00abc
	7	337,0 $\pm$ 23,00c	285,0 $\pm$ 32,00ab	286,0 $\pm$ 68,00ab
Macho	6	319,0 $\pm$ 36,00abc	285,0 $\pm$ 43,00ab	293,0 $\pm$ 36,00abc
	7	307,0 $\pm$ 45,00abc	293,0 $\pm$ 28,00abc	302,0 $\pm$ 30,00abc
Médias		324,0 $\pm$ 36,00b	282,0 $\pm$ 33,00a	296,0 $\pm$ 39,00a
P		<0,0001		

^a Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna e linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Análise centesimal da composição da dieta artificial oferecida às larvas de três populações de *Helicoverpa armigera* sob condições controladas (25±2°C, 70±10% U.R. e fotofase de 14h).

Constituinte	Valor	Unid
Carboidratos ⁽¹⁾	8,1	g/100 g
Açúcares ⁽¹⁾	0,824	g/100 g
Açúcares redutores ⁽¹⁾	3,04	g/100 g
Lactose ⁽¹⁾	0,003042	g/100 g
Fibra dietética insolúvel ⁽¹⁾	1,5	g/100 g
Fibra dietética solúvel ⁽¹⁾	0,1	g/100 g
Fibra dietética total ⁽¹⁾	1,6	g/100 g
Gorduras insaturadas ⁽¹⁾	0,7	g/100 g
Gorduras saturadas ⁽¹⁾	0,02	g/100 g
Gorduras trans ⁽¹⁾	0,47	g/100 g
Ácidos graxos livres ⁽¹⁾	5,61	g/100 g
Ácidos graxos linolêicos ⁽¹⁾	**<LQ	g/100 g
Lipídios ⁽¹⁾	0,72	g/100 g
Nitrogênio total ⁽¹⁾	0,85	g/100 g
Proteína total ⁽¹⁾	5,3	g/100 g
Cinzas a 550°C ⁽¹⁾	0,7	g/100 g
Ferro ⁽¹⁾	0,00161	g/100 g
Fósforo ⁽¹⁾	0,14503	g/100 g
Magnésio ⁽²⁾	0,0361	g/100 g
Manganês ⁽²⁾	0,00995	g/100 g
Potássio ⁽²⁾	0,1925	g/100 g
Sódio ⁽²⁾	0,0132	g/100 g
Zinco ⁽²⁾	0,00105	g/100 g
Valor energético ⁽³⁾	0,6	kcal/g
Valor energético ⁽³⁾	2,5	kJ/g

** <LQ: Less than the limit of quantification ⁽¹⁾ AOAC - A.O.A.C. INTERNATIONAL, Official Methods of Analysis, 18th edition, Maryland / USA; Current Through - Revision 3, 2010. ⁽²⁾ FDA - FDA - Food And Drug Administration. Elemental Analysis Manual. United States of America. Section 4.4 Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometric Determination of Elements in Food Using Microwave Assisted Digestion, August 2010. ⁽³⁾ RDC360 / 2003 - BRAZIL. RCD Resolution No. 360 of 23 December 2003. Approves Technical Regulation on Nutritional Labeling of Packaged Food, nutrition labeling becoming mandatory, the National Health Surveillance Agency. Official Gazette, Brasília, December 26, 2003.

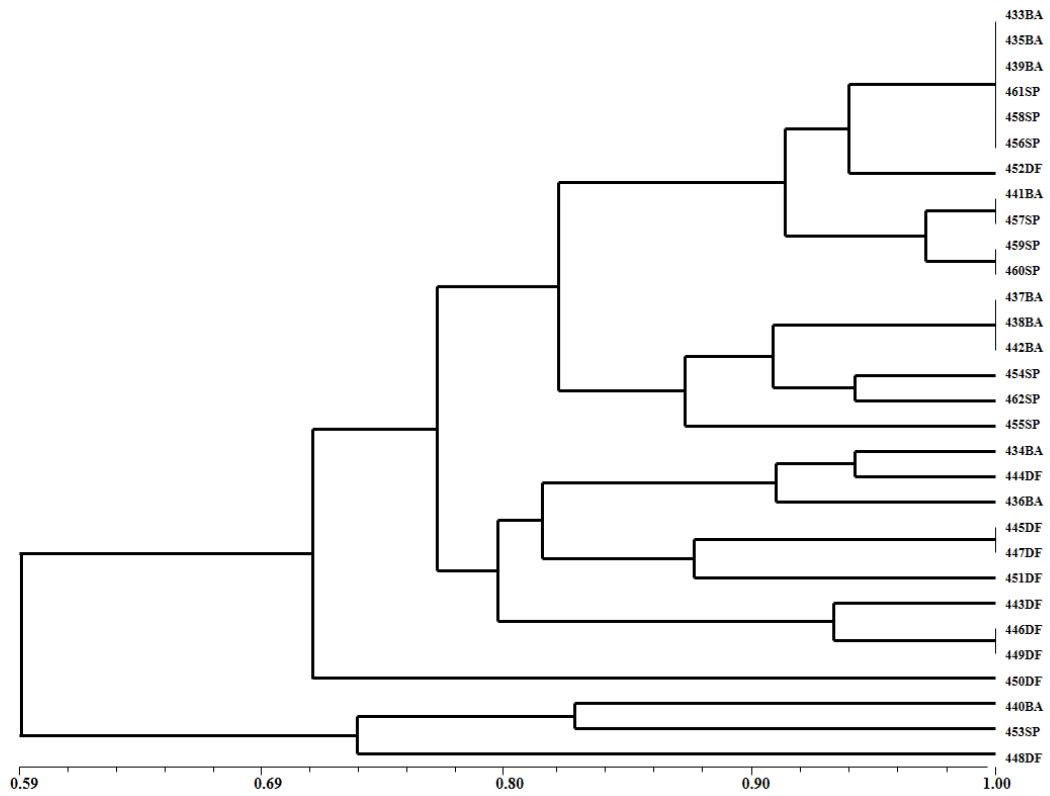


Fig. 1. Dendrograma de similaridade obtido utilizando o coeficiente Dice e agrupado pelo método UPGMA de três populações de *Helicoverpa armigera*, Bahia (BA), São Paulo (SP), Distrito Federal (DF).

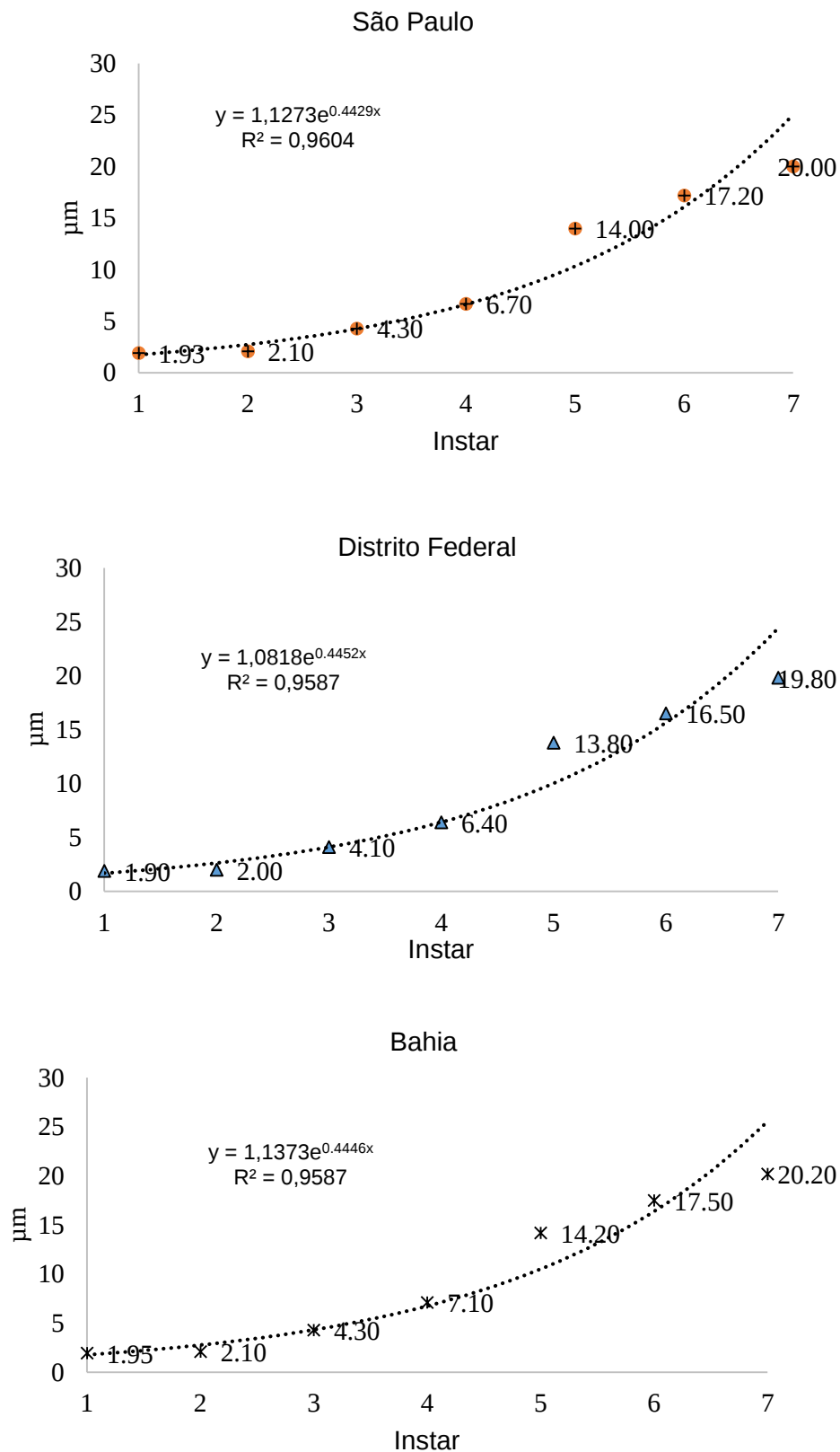


Fig. 2. Tamanho das cápsulas cefálica (μm) de larvas de três populações de *Helicoverpa armigera*.

CAPÍTULO II - Potencial biótico e tabela de vida de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) de três regiões brasileiras

Revista: Neotropical Entomology

Resumo: Este estudo objetivou avaliar o potencial biótico e tabela de vida de indivíduos de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) de diferentes plantas hospedeiras (citros, milho e algodão) e estados brasileiros (São Paulo, Distrito Federal e Bahia), em dieta artificial sob condições controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R., fotofase de 14h). Foram avaliados os períodos de longevidade, pré, pós e oviposição, fecundidade e fertilidade de 15 casais por origem. Foram comparados também os parâmetros reprodutivos de cada grupo de insetos, incluindo a taxa reprodutiva líquida (R_0), o tempo médio de geração (T), a taxa intrínseca de crescimento (r_m) e a taxa finita de aumento (λ). As análises por microssatélites dos indivíduos coletados em diferentes locais e plantas hospedeiras não mostrou diferenças entre os insetos parentais. Verificou-se que a progênie coletada em campos de algodão da Bahia apresentou maior potencial biótico, maior taxa reprodutiva (R_0) e melhor fecundidade em relação aos insetos das regiões remanescentes. Os gráficos da tabela de vida indicam que os maiores valores para os parâmetros reprodutivos da progênie da Bahia, estão associados a maior fertilidade específica, particularmente no início da idade adulta. O maior potencial biótico da progênie da Bahia pode ser devido ao aumento da pressão de seleção pelos inseticidas utilizados (organofosforados e piretróides) nas culturas de algodão, em comparação com a de outras culturas, bem como devido à adoção massiva de áreas produtoras de algodão Bt desse estado a partir dos surtos em 2013.

Palavras-chave: Fecundidade, longevidade, prole, dinâmica populacional, *Helicoverpa armigera*

Abstract-This study aimed to evaluate the biotic potential and life table of individuals of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) from different host plants (citrus, corn and cotton) and Brazilian States (São Paulo, Distrito Federal and Bahia) in artificial diet, under laboratory conditions ($25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ RH, 14 h photophase). The longevity, pre-, post- and oviposition periods, fecundity and fertility of 15 mating pairs were evaluated. We also compared the reproductive parameters of each group of insects (SP, DF and BA), including the net reproductive rate (R_0), mean generation time (T), intrinsic rate of increase (r_m) and finite rate of increase (λ). Microsatellite analysis from individuals collected in different locations and host plants did not show differences among the parental insects. It was verified that parental progeny collected in cotton fields from Bahia had a higher biotic potential, a higher reproductive rate (R_0) and better fecundity compared to the insects from remaining regions. The life table charts indicate that the highest values for the reproductive parameters of the Bahia progeny are associated with higher specific fertility, particularly in early adulthood. The greatest biotic potential of the Bahia progeny may be due to increased selection pressure from the insecticide used (organophosphate and pyrethroid) on cotton crops compared to that of other crops, as well due to the massive adoption of Bt cotton producing areas of that state from 2013 outbreaks.

Keywords: Fecundity, longevity, offspring, population dynamics, old world bollworm

Introdução

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é considerada uma severa praga agrícola (Fathipour & Sedaratian 2013) com ampla distribuição geográfica e grande significância em todos os continentes (Zalucki & Furlong 2005). Dados da literatura relatam a incidência de *H. armigera* em grande parte da Ásia (Karim 2000), África (EPPO 2014), América (Czepak *et al* 2013, Specht *et al* 2013, Murúa *et al* 2014, Kriticos *et al* 2015), Europa (EFSA, EPPO 2014) e Oceania (Zalucki *et al* 1986).

O inseto é polífago com capacidade de infestar mais de 100 espécies de plantas cultivadas em todo o mundo, incluindo culturas de importância econômica como algodão, milho, soja, tomate, feijão e tabaco (Matthews 1991, Zalucki *et al* 1994, Talekar *et al* 2006). Além da polifagia, *H. armigera* tem grande mobilidade e diapausa facultativa (Karim 2000, Zalucki & Furlong 2005, Naseri *et al* 2009, Fathipour & Naseri 2011). Em termos de fertilidade, as fêmeas podem depositar mais de 4.000 ovos durante todo seu ciclo, dependendo do hospedeiro e das condições ambientais presentes (Hardwick 1965).

H. armigera possui grande capacidade de dispersão, os adultos podem percorrer distâncias de até 1000 km em vôos noturnos (Pedgley 1985). A disponibilidade das plantas hospedeiras em diferentes regiões exercem uma forte influência na dinâmica populacional da praga (Kriticos *et al* 2015). Além disso, o inseto apresenta resistência a severos inseticidas organofosforados e piretróides comumente usados nas culturas (Armes *et al* 1996). Assim, Singh & Parihar (1988) observaram que a disponibilidade, a qualidade e a quantidade dos alimentos consumidos durante o estágio imaturo, têm efeito sobre o desenvolvimento, a dispersão e a reprodução na idade adulta. Similarmente em Lepidoptera, a qualidade da dieta oferecida aos pais, poderá afetar diretamente o desempenho das futuras gerações para a maioria das espécies (Woestmann & Saastamoinen 2016).

Desde que a presença de *H. armigera* foi registrada oficialmente no Brasil em 2013 (Embrapa 2013), foram notificados surtos nas culturas do algodão, citros, milho, soja e tomate em diferentes regiões do Brasil (Czepak *et al* 2013, Specht *et al* 2013, Bueno *et al* 2014, Pratissoli *et al* 2015, Sosa-Gómez *et al* 2016). A partir desses relatos, procurou-se coletar informações para subsidiar o manejo de *H. armigera* em diversas culturas, incentivando os pesquisadores aos primeiros estudos de avaliação

dos parâmetros biológicos do inseto no Brasil (Suzana *et al* 2016, Reigada *et al* 2016). Apesar da importância da construção de tabelas de vida para a compreensão da dinâmica populacional de uma espécie, incluindo as implicações diretas para o manejo da mesma (Silveira Neto *et al* 1976), pouca atenção foi dada para a construção de tabelas de vida para avaliar o potencial biótico de *H. armigera* de diferentes regiões e hospedeiros no Brasil.

Considerando a importância desta espécie para o Brasil (Kriticos *et al* 2015), a amplitude de sua distribuição na América (Sosa-Gómez *et al* 2016, Múrua *et al* 2016), a diversidade de plantas hospedeiras (Oliveira *et al* 2014, Kriticos *et al* 2015) e uma descrição da ocorrência de diferentes haplótipos (Tay *et al* 2013, Leite *et al* 2014, Mastrangelo *et al* 2014), o presente estudo trata-se de um complemento de uma pesquisa anterior sobre os estágios imaturos de três populações de *H. armigera* (capítulo 1).

Neste trabalho foram avaliados os parâmetros biológicos de desenvolvimento de progênes de *H. armigera* com ênfase especial em seu potencial biótico e em sua tabela de vida de fertilidade, sob condições controladas. O conhecimento sobre as diferenças de potencial biótico entre insetos de diferentes regiões pode subsidiar a implementação de estratégias de manejo dessa praga no Brasil, considerando-se as diferentes fronteiras e sucessões de culturas agrícolas envolvidas.

Material e Métodos

Populações de Helicoverpa armigera

Os indivíduos de *H. armigera* utilizados neste estudo foram obtidos por coletas em citros no município de Botucatu (SP) (22°53'09"S; 48°26'42"W), milho em Planaltina (DF) (16°04'34,9"S, 47°37'14,8"W), e algodão em São Desidério (BA) (12°39'46,1"S, 45°30'33,7"W). Os três grupos de insetos (SP, DF e BA) foram mantidos individualmente em sala climatizada.

A identificação em nível de espécie foi realizada no Laboratório de Entomologia da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, comparando a morfologia da genitália masculina dos insetos (Pogue 2004).

Caracterização molecular das populações de Helicoverpa armigera

A caracterização molecular dos insetos de cada local foi realizada usando dados de microsatélites (locus: HaC14, HaB60, HaC87, HarSSR1, HarSSR2, HarSSR3, HarSSR4 e HarSSR5) (Ji *et al* 2003, Scott *et al* 2004). As análises foram realizadas no Laboratório de Entomologia da Embrapa Soja, Londrina, PR, no qual foi extraído o DNA dos indivíduos de cada grupo (machos e fêmeas), utilizando o protocolo proposto por Roger & Bendich (1988).

Os produtos de amplificação foram analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 12,5% a 20 V / cm durante 8h em tampão Tris-glicina. Os géis foram tratados com brometo de etídio (10 mg.mL^{-1}) e as bandas foram visualizadas sob luz UV e fotografadas. Posteriormente, os géis foram escaneados utilizando um transiluminador (L-Pix Ex, Locus Biotecnologia®, Brasil). Os tamanhos dos fragmentos foram estimados por comparação com um marcador de DNA de 100 pb (GeneRuler, Thermoscientific®, Brasil). As bandas produzidas foram codificadas e dispostas em uma matriz que foi utilizada para construir um dendograma baseado na análise de agrupamento de similaridade de coeficientes utilizando o método UPGMA (Sneath & Sokal 1973) com o software PC-NTSYS 2.0. As distâncias entre os pontos de amostragem foram calculadas usando o seguinte site: <http://www.movable-type.co.uk/scripts/latlong.html> (capítulo 1).

Criação de Helicoverpa armigera

Espécimes de *H. armigera* foram mantidos em sala climatizada ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ U.R., fotofase de 14h) no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas (LARESPI), do Departamento de Proteção Vegetal da FCA-UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

Os ovos foram obtidos a partir do acasalamento dos insetos (pais) das diferentes origens (SP, DF e BA), os quais foram confinados em gaiolas cilíndricas de PVC ($\varnothing = 10 \text{ cm}$ e 20 cm de altura). Essas gaiolas foram revestidas com papel marrom (tipo kraft), que serviu como substrato para a oviposição, sendo que a parte superior das gaiolas foram cobertas com tecido “voil”. As gaiolas foram apoiadas em pratos

cilíndricos de plástico ($\varnothing=28$ cm). Diariamente, o papel e o “voil” contendo os ovos foram removidos, e porções desse substrato com os ovos foram cortadas e colocadas em copos de plástico (500 mL) com dieta artificial (Greene *et al* 1976, adaptada) e acondicionados em BOD ($25\pm 1^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R., fotofase de 14h) até a eclosão das larvas.

A dieta dos adultos foi administrada via capilaridade, através de algodão hidrofílico embebido em solução aquosa de mel a 10% (Flores Silvestres, Alvorada®, Brasil) e água, colocados sobre o tecido “voil”.

Imediatamente, após a eclosão, as larvas de cada origem de coleta (SP, DF e BA) foram colocadas individualmente em placas de Petri ($\varnothing=9,6$ cm e 2,1 cm de altura) com aproximadamente 5 g de dieta artificial. A dieta foi reabastecida conforme necessário. Diariamente, as placas foram limpas para remover os excrementos e as sobras de dieta, evitando assim possível contaminações.

A dieta foi removida quando as larvas cessaram sua alimentação e diminuíram de tamanho (característica típica da fase pré-pupal). Para proporcionar umidade e favorecer a preparação da câmara pupal, foram adicionados a cada placa $0,5\text{ cm}^3$ de vermiculita expandida umedecida com água. Após a pupação, os indivíduos foram sexados, comparando-se as marcações dos últimos segmentos abdominais das pupas (Kirkpatrick 1961). A manutenção diária das pupas exigia apenas manter a vermiculita úmida aplicando algumas gotas de água até a emergência dos adultos.

Bioensaio

Os adultos foram mantidos em pares ($n=15$ por origem) dentro de recipientes cilíndricos de plástico ($\varnothing=10$ cm e 15 cm de altura) com tiras de papel compridas para estimular à oviposição. Para evitar o efeito da idade do adulto na sua capacidade de copular (Rogers & Marti Jr. 1994), os pares para acasalamento foram formados por adultos que emergiram na mesma data.

As partes superiores dos recipientes foram seladas com película de plástico e os fundos foram fechados com placas de Petri ($\varnothing=10,5$ cm) revestidas com papel filtro. A dieta dos adultos foi composta de mel (10 g), ácido sórbico (1 g), metilparabeno (1 g), sacarose (60 g) e água destilada (1000 mL) (Hoffmann-Campo *et al* 1985). Todos

os componentes foram dissolvidos em água destilada, e a solução resultante, foi mantida refrigerada (7°C) até à sua utilização. Adicionalmente, foi fornecida água destilada em cada placa de Petri com auxílio de porções de algodão. Os recipientes foram avaliados diariamente para registar a sobrevivência dos adultos e para remover e contar o número de ovos.

A fecundidade (número de ovos por fêmea), a fertilidade (número de larvas eclodidas por fêmea), a longevidade e duração dos períodos de pré-oviposição, pós-oviposição e oviposição também foram avaliados. Para estimar a fertilidade, avaliou-se a viabilidade de 5.480 (SP), 4.798 (DF) e 6.589 (BA) ovos de sete casais de cada origem, incluindo o início e o fim do período de oviposição. Os ovos foram colocados em placas de Petri revestidas com papel filtro umedecido com água até à eclosão das larvas.

Cada recipiente contendo um casal de *H. armigera* foi considerado uma repetição, para um total de 15 casais por origem, em um delineamento inteiramente casualizado.

Após o estabelecimento dos parâmetros biológicos, o potencial biótico (PB) foi calculado considerando a resistência do ambiente a ser nula, utilizando a seguinte equação descrita por Silveira Neto *et al* (1976): $BP = (sr \cdot d)^n \cdot er$. Onde, a razão do sexo (sr) é o número de fêmeas dividido pelo número de fêmeas mais o número de machos; os indivíduos viáveis por fêmea (d), consiste no número de ovos por fêmea (ou fecundidade) multiplicado pela sobrevivência total; o número (n) de gerações por ano, ou 365 dias dividido pelo tempo de vida total; e a resistência ambiental (er), neste caso considerada nula.

O potencial biótico e a tabela de vida de fecundidade foram desenvolvidos utilizando dados dos estádios imaturos das mesmas populações de *H. armigera* criadas de acordo com a metodologia do capítulo 1. Os dados são apresentados graficamente, representando a probabilidade dos valores de sobrevivência no ponto médio de cada intervalo de tempo (taxa de sobrevivência-lx) e o número total de ovos por fêmea por semana que se tornaram fêmeas (fertilidade específica-mx).

Utilizando a tabela de vida, foram calculados os valores dos diferentes parâmetros reprodutivos dos grupos de *H. armigera*. A taxa reprodutiva líquida (Ro), dada pela relação entre o número de fêmeas em duas gerações sucessivas; o tempo

médio de geração (T), que é composto pelo número médio de dias desde o nascimento dos pais até o nascimento da prole; a taxa intrínseca diária de aumento (r_m); e a taxa diária finita de aumento (λ), seguindo as fórmulas contidas em Silveira Neto *et al* (1976).

Análises estatísticas

Todos os parâmetros biológicos foram analisados utilizando estatística descritiva com a progênie utilizada como um fator para as comparações de pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, longevidade e fecundidade. O sexo foi adicionado como um fator para as comparações de longevidade por gênero. As análises foram realizadas utilizando ANOVA, e as médias foram separadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software estatístico SAS (Statistical Analysis System, Versão 9.2). A tabela de vida foi preparada como descrito pelas equações de Silveira Neto *et al* (1976).

Resultados e Discussão

Os alelos de microsatélites foram amplificados para as três populações geográficas de *H. armigera* (Fig 1). A análise destes loci utilizando o método de agrupamento não revelou diferenças entre as populações. Estes resultados são semelhantes aos descritos por Scott *et al* (2005a, b), que não encontraram diferenças genéticas do inseto em diferentes regiões. A falta de diferenciação entre as populações pode ser devido à recente expansão dessa praga na América do Sul, conforme relatado por Sosa-Gómez *et al* (2016) e Murúa *et al* (2016), ou por várias incursões por uma população diversa (Anderson *et al* 2016).

Não houve diferença significativa na longevidade da progênie considerando os locais, sexo e sua interação (Tabela 1). Não houve diferença nos parâmetros de fertilidade, pré, pós e oviposição (Tabela 1). Embora os grupos de insetos sejam compostos de indivíduos coletados de diferentes plantas hospedeiras e em diferentes locais, nas avaliações de desempenho de imaturos, foram encontradas durações médias semelhantes (31,9, 31,2 e 31,2 dias) nos insetos cujos pais vieram de São

Paulo, Distrito Federal e Bahia, respectivamente (capítulo 1). Esses valores estão próximos aos verificados em populações no Brasil (Barbosa *et al* 2016, Reigada *et al* 2016) e em outros países (Abbasi *et al* 2007, Fathipour & Naseri 2011, Jha *et al* 2012, Hemanti *et al* 2012, Jha *et al* 2014, Naseri *et al* 2014) com dietas naturais e artificiais.

Com base na viabilidade dos ovos de cada progênie (SP=61,90%, DF=69,86% e BA=72,65%) (capítulo 1), as médias de fertilidade específica foram de 592,01; 766,83 e 914,76 larvas por fêmea de *H. armigera* de SP, DF e BA, respectivamente (Fig 2). A taxa máxima de crescimento populacional, representada pela interseção das linhagens específicas de sobrevivência e fecundidade nas progênies SP e DF, ocorreu entre os dias 37 e 39, no meio da 5ª semana de vida. Entretanto, na população BA, o máximo ocorreu mais cedo, entre os dias 35 e 36, no início da 5ª semana de vida (Fig 2). O maior valor para R_0 (Tabela 2) no grupo BA foi devido à maior fertilidade média (Tabela 1) associada ao maior número médio de fecundidade no segundo dia de oviposição (Fig 2 C) comparado com outras populações (Fig 2 A B). Esse aumento na produção de ovos no início do período de oviposição também foi responsável pela diminuição do tempo médio de geração (T) (Tabela 2). O aumento da produção de ovos no início do período de oviposição é geralmente associado com maior compatibilidade reprodutiva, ou a capacidade de copular imediatamente após a formação dos casais (Montezano *et al* 2013, 2014, 2015).

Hemati *et al* (2012) observaram que as respostas comportamentais de *H. armigera* podem ser melhor compreendidas a partir de estudos que examinam sua correlação com os índices nutricionais dos hospedeiros. Peculiaridades do hospedeiro podem explicar a diferença no período médio de oviposição e a fecundidade da progênie de pais de SP e DF em relação aos insetos BA. Situações dietéticas deficientes experimentadas pelos pais durante o seu desenvolvimento larval, geralmente levam a menor fecundidade na fase adulta (Myers *et al* 2011). Em pesquisa desenvolvida por Hemati *et al* (2012), os autores também sugerem que o desenvolvimento reduzido e/ou taxa de reprodução reduzida dos insetos está diretamente relacionada à presença de produtos químicos secundários ou à falta de nutrientes básicos em alguns dos hospedeiros.

O potencial biótico calculado a partir da equação $BP = (sr \cdot d)^n$ - er resultou em quase sextilhões de descendentes no grupo SP, quase cem vezes o número de

descendentes DF e mil vezes o número no grupo BA (Tabela 2). Os valores da taxa bruta de reprodução (R_0), da taxa intrínseca diária de aumento (r_m) e da taxa diária de aumento finito (λ), foram menores no grupo SP, intermediário no grupo DF e superior no grupo BA. No entanto, a duração média do ciclo de vida (T) foi inferior no grupo da BA e superior no grupo de SP (Tabela 2). Em geral, as progênies de pais com alta qualidade alimentar mostram normalmente um desenvolvimento mais rápido em comparação com os demais (Rotem *et al* 2003).

Os insetos (pais) BA foram coletados em uma região produtora de algodão (São Desidério), e esta cultura é considerada o principal hospedeiro de *H. armigera* (Jallow & Zalucki 2003, Zalucki *et al* 2012). Os indivíduos (pais) SP e DF foram coletados em citros e milho, respectivamente. Estas duas culturas, que provavelmente serviram de hospedeiro inicial do inseto, podem não oferecer a nutrição ideal necessária para produzir uma alta taxa de reprodução e fertilidade na idade adulta (Cohen 2004, Parra *et al* 2009). A quantidade e a qualidade dos alimentos consumidos e a eficiência com que são utilizados determinam as condições nutricionais para o crescimento e proliferação de insetos (Ruan & Wu 2001, Barton & Raubenheimer 2003).

Independente do valor da mesma dieta oferecida para os três grupos de insetos, os pais BA originaram mais insetos em comparação com os outros com menor período entre gerações (capítulo 1) e maior fecundidade (Tabela 1), sugerindo a necessidade de um maior monitoramento. Vários estudos mostraram que a qualidade da dieta dos pais não só afeta a prole, mas também pode comprometer as gerações futuras (Pembrey *et al* 2006), reduzindo a imunidade (Triggs & Knell 2012) e a resistência ao parasitismo (Sternberg *et al* 2015).

No início de 2013, houve relatos particularmente perturbadores de infestações de *H. armigera* por produtores de algodão na Bahia, onde a produtividade foi severamente afetada (Specht *et al* 2013, Mastrangelo *et al* 2014). Diante dessa situação descontrolada, a maioria dos produtores do oeste da Bahia aumentou em 15% o número de aplicações de inseticidas para suas lavouras de algodão, aumentando o custo de US \$ 400 a US \$ 800 por hectare (Embrapa 2013, Mastrangelo *et al* 2014). Uma crise similar foi relatada no norte da China, onde os surtos de *H. armigera* causaram perdas em culturas de algodão estimadas em US \$ 1 bilhão (Sheng 1993).

Na presente pesquisa, verificou-se que a progênie de *H. armigera* proveniente de algodão, requer menos tempo para completar seu ciclo, permitindo um maior número de gerações por ano quando os insetos ocorrem nessa cultura (Tabelas 1 e 2). Assim, é possível que os produtores de algodão Bt e não Bt sejam mais propensos a usar inseticidas sintéticos em determinadas áreas. Tal fato predispõe as populações a uma maior pressão de seleção, a partir da qual, estas ganham vantagens adaptativas (ciclo mais curto, maior fecundidade) sob outras populações em resposta ao uso inadequado de inseticida (Armes *et al* 1996, Chakroun *et al* 2016), semelhante ao observado com outras pragas em milho (Tabashnik *et al* 2013, Gassmann *et al* 2014). Com base na literatura, *H. armigera* geralmente apresenta vantagens competitivas em relação aos seus homólogos (Barbosa *et al* 2016).

Considerando o potencial de dispersão dos insetos e a vasta fronteira agrícola no Brasil, o conhecimento sobre a dinâmica populacional das espécies e o papel dos hospedeiros sobre o número de gerações que são produzidas ao longo do ano, são essenciais para estimar o potencial de danos causados pelas pragas nos diferentes sistemas de produção. Essas respostas podem fornecer informações adicionais que puderam ser utilizadas para planejar e implementar estratégias para o manejo integrado dessa praga no Brasil.

Agradecimentos

À Coordenação de Pessoal de Educação Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos concedida ao primeiro autor. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas Bolsas de Produtividade em Pesquisa (processos nº 303892/2016-1 e nº 308947/2014-2) concedidas ao segundo e quarto autores, respectivamente e pelo auxílio à pesquisa (processos nº 403376/2013-0, 476691/2013-3, 47304/2013-8). À EMBRAPA, pelo auxílio à pesquisa (processo nº 02.13.14.006).

Referências

- Abbasi B, Ahmed K, Khalique F, Ayub N, Liu H, Kazmi S, Aftab M (2007) Rearing the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, on a tapioca-based artificial diet. J Insect Sci 7:1-7
- Amer AEA, El-Sayed AAA (2014) Effect of different host plants and artificial diet on *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) development and growth index. J Entomology 11:299-205
- Anderson CJ, Tay WT, McGaughran A, Gordon K, Walsh TK (2016) Population structure and gene flow in the global pest, *Helicoverpa armigera*. Mol Ecol 25:5296-5311 doi: 10.1111/mec.13841
- Armes NJ, Jadhav DR, DeSouza KR (1996) A survey of insecticides resistance in *Helicoverpa armigera* in the Indian sub-continent. Bulletin Entomol Research 86:499–514
- Barbosa TAN, Mendes SM, Rodrigues GT, Ribeiro PEA, Santos CA, Valicente FH, Oliveira CM (2016) Comparison of biology between *Helicoverpa zea* and *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) reared on artificial diets. Fla Entomol 99:72-76
- Barton LB, Raubenheimer D (2003) Ontogenetic changes in the rate of ingestion and estimates of food consumption in fourth and fifth instar *Helicoverpa armigera* caterpillars. J Insect Physiology 49:63-71
- Bueno RCOF, Yamamoto PT, Carvalho MM, Bueno NM (2014) Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) on citrus in the state of Sao Paulo, Brazil. Rev Bras Frutic 36:520-523
- Cohen AC (2004) Insect diet: science and technology. Florida, Boca Raton editora 324p
- Chakroun M, Banyuls N, Walsh T, Downes S, James B, Ferré J (2016) Characterization of the resistance to Vip3Aa in *Helicoverpa armigera* from Australia and the role of midgut processing and receptor binding. Sci Reports 6:1-11 doi: 10.1038/srep24311
- Czepak C, Albernaz KC, Vivan LM, Guimarães HO, Carvalhais, T (2013) Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. Pesq Agro Trop 43:110-113

- EFSA (2014) Scientific opinion on the pest categorisation of *Helicoverpa armigera* (Hübner). EFSA Journal 12:1-28. doi:10.2903/j.efsa.2014.3833
- Embrapa (2013) Nota técnica sobre resultado do trabalho inicial de levantamento da lagarta do gênero *Helicoverpa* – detecção da espécie *Helicoverpa armigera* no Brasil. Nota técnica. Planaltina: Embrapa Cerrados
- EPPO (2014) PQR database. Paris, France: European and mediterranean plant protection organization. Disponível <<http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>> acesso 15 agosto 2016
- Fathipour Y, Naseri B (2011) Soybean cultivars affecting performance of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), p.599-630. In: Ng, TB (eds.), Soybean biochemistry, chemistry and physiology. Croatia, 642p
- Fathipour Y, Sedaratian A (2013) Integrated management of *Helicoverpa armigera*, p.231-280. In: Elshemy HA (eds) Soybean cropping systems, Cairo, 318p
- Gassmann AJ, Petzold-Maxwell JL, Clifton EH, Dunbar MW, Hoffmann AM, Ingber DA, Keweshan RS (2014) Field-evolved resistance by western corn rootworm to multiple *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic maize. PNAS 111:5141–5146. doi 10.1073/pnas.1317179111
- Greene GL, Leppla NC, Dickerson WA (1976) Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and artificial medium. J Econ Entomol 69:447-448
- Hardwick DF (1965) The corn earworm complex. Canada, 247p. doi: <http://dx.doi.org/10.4039/entm9740fv>
- Hemati SA, Naseri B, Nouri-Ghanbalani G, Rafiee-Dastjerdi H, Golizadeh A (2012) Effect of different host plants on nutritional indices of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. J Insect Sci 12:1-15
- Hoffmann-Campo CBH, Oliveira EB, Moscardi F (1985) Criação massal da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatilis*). Embrapa Soja, Londrina, 23p
- Jallow MFA, Zalucki MP (2003) Relationship between oviposition preference and offspring performance in Australian *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). Aust J Entomol 42:343–348
- Jha RK, Chi H, Tang LC (2012) A comparison of artificial diet and hybrid sweet corn for the rearing of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) based on life table characteristics. Envir Entomol 41:30-39

- Jha RK, Tuan S-J, Chi H, Tang L-C (2014) Life table and consumption capacity of corn earworm, *Helicoverpa armigera*, fed asparagus, *Asparagus officinalis*. J Insect Sci 14:1-17
- Ji YJ, Zhang DX, Hewitt GM, Kang L, Li DM (2003) Polymorphic microsatellite loci for the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and some remarks on their isolation. Mol Ecol Notes 3:102-104
- Karim S (2000) Management of *Helicoverpa armigera*: a review and prospectus for Pakistan. Pakistan J Biol Sci 3:1213-1222
- Kirkpatrick TH (1961) Comparative morphological studies of *Heliothis* species (Lepidoptera: Noctuidae) in Queensland. J Agric Sci 18:179-194
- Kriticos DJ, Ota N, Hutchison WD, Beddow J, Walsh T, Tay WT, Borchert DM, Paula-Moreas SV, Czapak C, Zalucki MP (2015) The Potential Distribution of Invading *Helicoverpa armigera* in North America: Is It Just a Matter of Time? PLoS One 10:1-24. doi:10.1371/journal.pone.0119618
- Leite NA, Alves-Pereira A, Corrêa AS, Zucchi MI, Omoto C (2014) Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. PLoS One 9:1-9
- Mastrangelo T, Paulo DF, Bergamo LW, Morais EG (2014) Detection and genetic diversity of a *Heliothine* invader (Lepidoptera: Noctuidae) from north and northeast of Brazil. J Econ Entomol 107:970-980
- Matthews M (1991) Classification of the Heliethinae. Nat Resour Inst. Bull 44:1-198
- Montezano DG, Specht A, Sosa-Gómez DR, Roque-Specht VF, Barros NM (2013) Biotic potential and reproductive parameters of *Spodoptera eridania* (Stoll) (Lepidoptera, Noctuidae) in the laboratory. Rev Bras Ent 57:340-345. doi: 10.1590/S0085-56262013005000026
- Montezano DG, Specht A, Sosa-Gómez DR, Roque-Specht VF, Bortolin TM, Fronza E, Pezzi P, Luz PC, Barros NM (2014) Biotic potential, fertility and life table of *Spodoptera albula* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), under controlled conditions. Anais Acad Bras Ciências 86:723-732. doi: 10.1590/0001-3765201402812
- Montezano DG, Sosa-Gómez DR, Paula-Moraes SV, Roque-Specht VF, Fronza E, Barros NM, Specht A (2015) Biotic potential and reproductive parameters of

- Spodoptera dolichos* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Noctuidae), in the laboratory. *Zoologia* 32:485-491. doi: 10.1590/S1984-46702015000600008
- Murúa, MG, Scalora FS, Navarro FR, Cazado, LE, Casmuz A, Villagrán ME, Lobos E, Gastaminza G (2014) First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. *Fla Entomol* 97:854-856
- Murúa MG, Cazado LE, Casmuz A, Herrero MI, Villagran M.E, Vera A, Sosa-Gómez DR, Gastaminza G (2016) Species from the *Heliothinae* complex (Lepidoptera: Noctuidae) in Tucuman, Argentina, an Update of Geographical Distribution of *Helicoverpa armigera*. *J Insect Sci* 61:1–7
- Myers JH, Cory JS, Ericsson JD, Tseng ML (2011) The effect of food limitation on immunity factors and disease resistance in the western tent caterpillar. *Oecologia* 167:647–655
- Naseri B, Fathipour Y, Moharramipour S, Hosseininaveh V (2009) Life table parameters of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on different soybean cultivars. *J Entomol Society of Iran* 29:25-40
- Naseri B, Golparva B, Razmjou J, Golizadeh A (2014) Age-stage, two-sex life table of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on Different Bean Cultivars. *J Agr Sci Tech* 16:19-32
- Oliveira CM, Auad AM, Mendes SM, Frizzas MR (2014) Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. *Crop Protection* 56:50-54
- Parra JRP (2009) Índices nutricionais para medir consumo e utilização de alimentos por insetos. In: Panizzi, AR, Parra JRP *Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado*. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas 37-90p
- Pedgley DE (1985) Windborne migration of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to the British Isles. *Entomologist's Gazette*, Wallingford 36:15-20
- Pembrey ME, Bygren LO, Kaati G, Edvinsson S, Northstone K, Sjöström M, Golding J (2006) Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans. *Eur J Hum Genet* 14:159–166
- Pogue MG (2004) A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: *Heliothinae*). *Ann Entomol Soc Am* 97:1222-1226

- Pratissoli D, Lima VLS, Pirovani VD, Lima WL (2015) Occurrence of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on tomato in the Espírito Santo state. Hort Bras 33:101-105
- Reigada C, Guimarães KF, Parra JRP (2016) Relative fitness of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on seven host plants: A perspective for IPM in Brazil. J Insect Sci 16:1-5
- Rogers SO, Bendich AJ (1988) Extraction of DNA from plant tissues. In: Gelvin SV, Schilperoort RA, Verma DPS. (Eds.) Plant molecular biology manual. Dordrecht: Kluwer Academic 10p
- Rogers CE, Marti Jr. OG (1994) Effects of age at first mating on the reproductive potential of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). Envi Entomol 23:322-325
- Rotem K, Agrawal AA, Kott L (2003) Parental effects in *Pieris rapae* in response to variation in food quality: adaptive plasticity across generations? Ecol Entomol 28:211–218
- Ruan YM, Wu KJ (2001) Performances of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, on different food plants. Acta Entomology, Bohemoslov, 44:205-212
- Scott KD, Lange CL, Scott LJ, Graham GC (2004) Isolation and characterization of microsatellite loci from *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). Mol Ecol 4:204-205
- Scott KD, Lawrence N, Lange CL, Scott LJ, Wilkinson KS, Merritt MA, Miles M, Murray D, Graham GC (2005a) Assessing moth migration and population structuring in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) at the regional scale: example from the Darling Downs, Australia. J Econ Entomol 98:2210–2219
- Scott KD, Wilkinson KS, Lawrence N, Lange CL, Scott LJ, Merritt MA, Lowe AJ, Graham GC. (2005b) Gene-flow between populations of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) is highly variable between years. Bull Entomol Res 95:381–392
- Sheng CF (1993) Outbreak of *Heliothis armigera* in north China: possible causes and control strategies, pp. 841-844. In Proceedings, Beltwide Cotton Production Research Conferences. National Cotton Council of America, Memphis
- Silveira Neto S, Nakano O, Barbin D, Villa Nova NA (1976) Manual de ecologia dos insetos. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976. 419p

- Singh OP, Parihar SBB (1988) Effect of different hosts on the development of *Heliothis armigera* Hub. Bull Entomol 29:168–172
- Sneath PH, Sokal RR (1973) Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification. Freeman and company (eds), San Francisco, 549p
- Sosa-Gómez DR, Specht A, Paula-Moraes SV, Lopes-Lima A, Yano SAC, Micheli A, Moraes EG, Gallo P, Pereira PRVS, Salvadori JR, Botton M, Zenker MM, Azevedo-Filho, Wilson S (2016) Timeline and geographical distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliethinae) in Brazil. Rev Bras Entom 60:101-104
- Specht A, Sosa-Gómez DR, Paula-Moraes SVD, Yano SAG (2013) Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. Pesq Agro Bras 48:689-692
- Sternberg ED, de Roode JC, Hunter MD (2015) Trans-generational parasite protection associated with paternal diet. J Anim Ecol 84:310–321
- Suzana CS, Damiani R, Fortuna LS, Salvadori JR (2015) Desempenho de larvas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes fontes alimentares. Pesq Agropec Trop Goiânia 45:480-485
- Tabashnik BE, Brévault T, Carrière Y (2013) Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. Nat biotechnology 31:510-521. doi:10.1038/nbt.2597
- Talekar NS, Opena RT, Hanson P (2006) *Helicoverpa armigera* management: A review of AVRDC's research on host plant resistance in tomato. Crop Protection 25:461–467
- Tay WT, Soria MF, Walsh T, Thomazoni D, Silvie P, Behere GT, Anderson C, Downes S (2013) A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. PLoS One 8:1-7
- Triggs A, Knell RJ (2012) Interactions between environmental variables determine immunity in the Indian meal moth *Plodia interpunctella*. J Anim Ecol 81:386–394
- Woestmann L, Saastamoinen M (2016) The importance of trans-generational effects in Lepidoptera. Current Zoo 6:489–499 doi: 10.1093/cz/zow029
- Zalucki MP, Furlong MJ (2005) Forecasting *Helicoverpa* populations in Australia: a comparison of regression based models and a bioclimatic based modelling approach. J Insect Sci 12:45–56

- Zalucki MP, Daglish G, Firempong S, Twine PH (1986) The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hübner) and *H. punctigera* Wallengren (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: what do we know? Australian J Zoo 34:779–814
- Zalucki MP, Murray DAH, Gregg PC, Fitt GP, Twine PH, Jones C (1994) Ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *H. punctigera* (Wallengren) in the inland of Australia: larval sampling and host plant relationships during winter and spring. Australian J Zoo 42:329-346
- Zalucki MP, Cunningham JP, Downes S, Ward P, Lange C, Meissles M, Schellhorn NA, Zalucki JM (2012) No evidence for change in oviposition behaviour of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) after widespread adoption of transgenic insecticidal cotton. Bull Entomol Res 102:468–476

Tabela 1

Médias ($\pm$ EP) para os períodos de longevidade, pré e pós-oviposição, oviposição e fecundidade de 15 casais de *Helicoverpa armigera*, sob condições controladas ($25\pm 1^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R., 14h de fotofase).

Sexo	Parâmetros biológicos	SP ^a		DF ^a		BA ^a		Significância ^b
		Média	Alcance	Média	Alcance	Média	Alcance	
Ambos	Longevidade (dias)	11,77 $\pm$ 5,82	4 - 23	13,58 $\pm$ 2,93	8 - 19	14,83 $\pm$ 4,64	6 – 23	0,463
Fêmea	Longevidade (dias)	11,87 $\pm$ 5,46	4 - 23	13,00 $\pm$ 2,17	9 - 16	14,133	10 – 23	0,336
	Pré-oviposição (dias)	2,87 $\pm$ 0,32	1 - 4	3,08 $\pm$ 1,78	1 - 7	2,73 $\pm$ 1,53	1 – 7	0,819
	Pós-oviposição (dias)	0,73 $\pm$ 1,03	0 - 3	0,67 $\pm$ 0,99	0 - 3	1,00 $\pm$ 0,93	0 – 3	0,372
	Oviposição (dias)	8,27 $\pm$ 4,70	2 - 18	9,25 $\pm$ 2,09	6 - 13	10,40 $\pm$ 4,63	3 – 21	0,638
	Fecundidade (ovos)	956,40 $\pm$ 632,81	85–2175	1097,67 $\pm$ 531,66	203 – 1986,04	1259,13 $\pm$ 818,38	215 – 2959,11	0,483
	Significância ^c	0,927		0,436		0,482		
Macho	Longevidade (dias)	11,77 $\pm$ 6,34		14,17 $\pm$ 3,54		15,53 $\pm$ 5,41	6 – 23	0,147

^a origem dos pais

^b Comparações da significância das três populações de *H. armigera* por ANOVA e pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

^c Comparações de longevidade média de machos e fêmeas usando o teste de Tukey, considerando variâncias diferentes, com um nível de significância de 5%

Tabela 2

Tabela de vida de três populações de *Helicoverpa armigera* sob condições controladas ($25\pm 1^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R., 14h de fotofase).

Parâmetro	SP	DF	BA
BP	$6,475 \times 10^{20}$	$2,106 \times 10^{22}$	$5,927 \times 10^{23}$
Ro	124,380	235,669	303,665
T	39,075	39,211	38,138
r_m	0,123	0,139	0,150
λ	1,137	1,149	1,162

Potencial biótico (BP), taxa reprodutiva líquida (Ro), tempo de geração médio (T), taxa de crescimento intrínseco diária (r_m) e taxa diária de crescimento finito (λ)

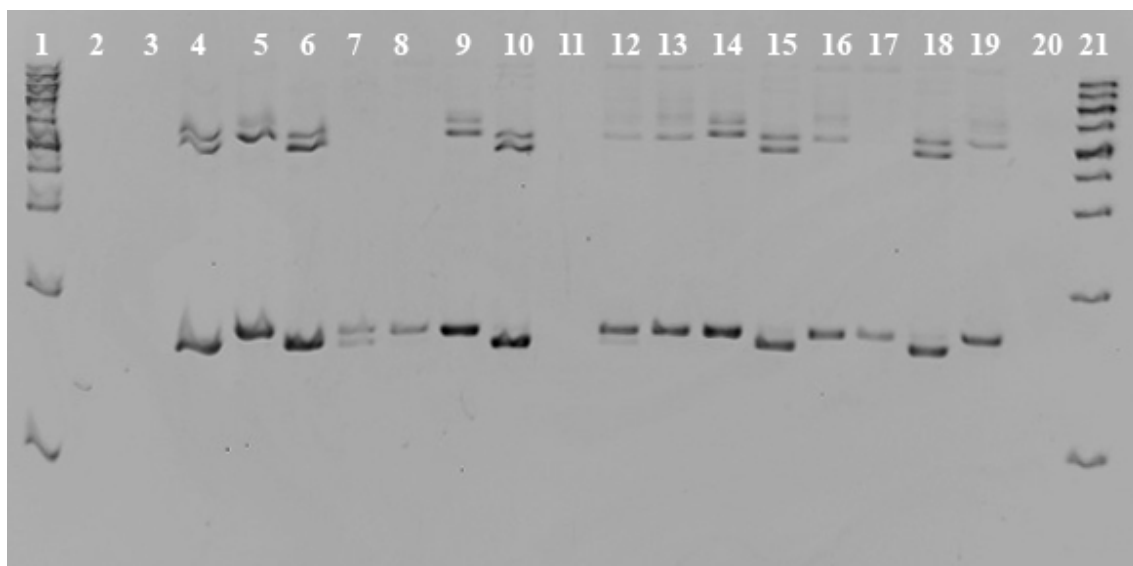
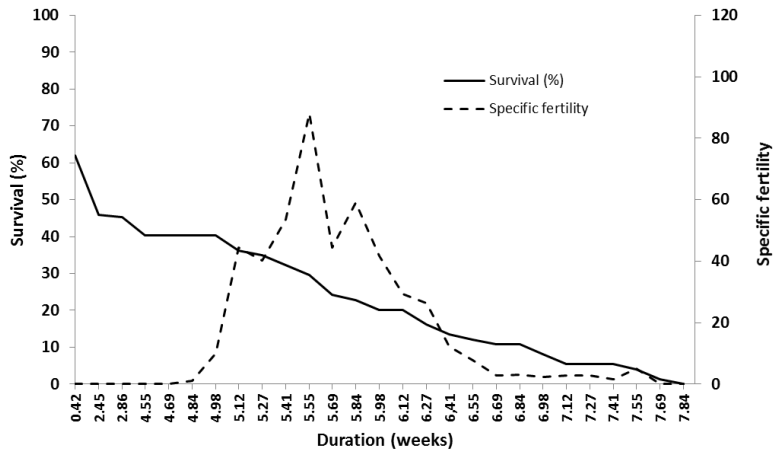


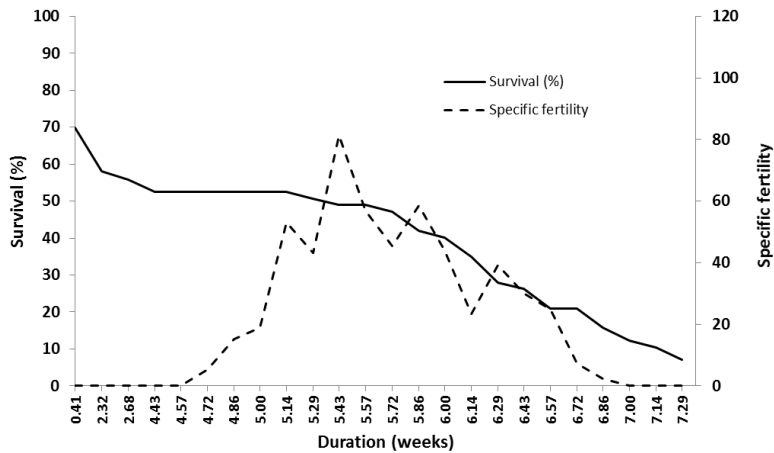
Fig 1

Alelos de microssatélites em gel de poliacrilamida (acrilamida, 22%), loci HarSSR2, descrito por Ji *et al* (2003). Pista 1: 100 pb Peso molecular; Pista 2: sem amostra; Pista 3: controle negativo; Pista 4 a 8: fêmeas *Helicoverpa armigera* de São Desidério, Bahia; Faixa 9 a 14: machos de São Desidério, Bahia, exceto pista 11: sem amostra; Faixa de 15 a 19 fêmeas do Distrito Federal; Pista 20: sem amostra; Pista 21: 100 pb MW.

A - São Paulo (SP)



B - Distrito Federal (DF)



C - Bahia (BA)

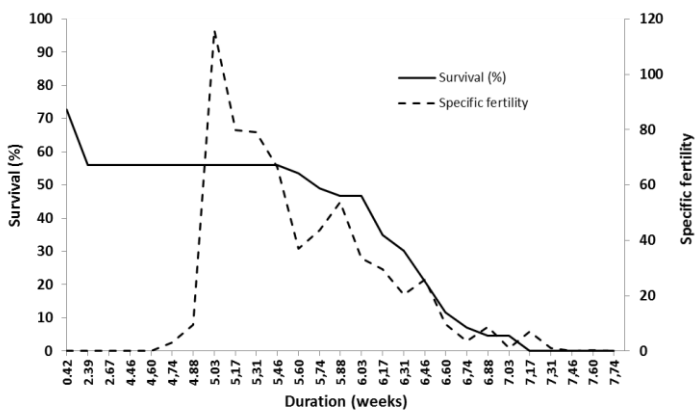


Fig 2 Relação entre fertilidade (mx) e taxa de sobrevivência (lx) nas populações de *Helicoverpa armigera* de São Paulo (A), Distrito Federal (B) e Bahia (C), criados com dieta artificial ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ U.R., 14h de fotofase).

CAPÍTULO III - Performance diferencial de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em dieta natural e artificial e sua relação com a composição nutricional

Revista: Environmental Entomology

Resumo

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma importante praga para diversos cultivos de importância agrícola em todo o mundo. Neste estudo, avaliou-se o desenvolvimento do inseto em diferentes estruturas vegetativas e reprodutivas de algodão, milho e soja convencionais em comparação com dieta artificial, sob condições controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R. e 14h de fotofase). Foram utilizados 100 indivíduos por estrutura (folhas e maçãs de algodão; folhas, grãos e estilo-estigma de milho; folhas e vagens de soja) e dieta artificial ($n=800$). Também foram realizadas análises centesimais de teores dos principais nutrientes presentes nas dietas. Nas estruturas avaliadas, os índices de viabilidade larval variaram de 22% a 55%, enquanto que na dieta artificial o índice foi de 62%. As folhas de milho apresentaram o índice mais próximo da dieta artificial, com 56%. Os estilo-estigmas de milho (22%), seguidos pelas folhas de algodão (27%) e de soja (34%) revelaram-se as dietas naturais menos favoráveis ao desenvolvimento larval de *H. armigera* em comparação com as demais dietas. A análise centesimal das dietas comparou 14 constituintes que foram comuns a todas as dietas, os quais correlacionaram-se significativamente com as fases larval e pupal e/ou peso pupal. Dos 12 componentes da dieta que afetam significativamente a duração da fase larval, metade apresentou correlação negativa. Em geral, a dieta artificial se revelou como o substrato mais adequado ao desenvolvimento de *H. armigera*, na comparação com as dietas naturais avaliadas. Contudo, não se pode descartar a variabilidade na composição nutricional dos hospedeiros naturais a campo, bem como a oferta mista a partir de diferentes partes da planta ou movimentação entre espécies vegetais durante a fase larval do inseto.

Palavras-chave: Desenvolvimento biológico, análise centesimal, lagarta do velho-mundo, hospedeiros

Abstract

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) is a chief pest for several crops of agricultural importance worldwide, and its attack can significantly compromise the productivity in crops. In this study, the insect development in different vegetative and reproductive structures of conventional cotton, corn, and soybean was evaluated in comparison with artificial diet under controlled conditions ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ R.H. and 14h of photophase). One hundred individuals per structure (cotton leaves and bracts; corn leaves, grains, and style-stigma; soy leaves and beans) and artificial diet ($n = 800$) were used. Centesimal analyzes of the main nutrients present in the diets were also performed. In the evaluated structures, the rates of larval viability ranged from 22% to 55%, while in the artificial diet the index was 62%. The corn leaves had the closest index to the artificial diet with 56%. The corn style-stigmas (22%), followed by cotton leaves (27%) and soy leaves (34%) were the natural diets less favorable to the larval development of *H. armigera* compared to the other diets. The centesimal analysis of the diets compared 14 constituents that were common to all diets, which correlated significantly with the larval and pupal and/or pupal weight phases, except for magnesium. Out of the 12 dietary components that significantly affect the duration of the larval phase, half of them presented a negative correlation, which indicates a decrease in the development time from their increases. In general, the artificial diet proved to be the most suitable substrate for the development of *H. armigera* in comparison with the natural diets evaluated. However, the variability in the nutritional composition of the natural hosts in the field should not be ruled out, neither the mixed supply from different parts of the plant, nor the migration among plant species during the larval stage of the insect.

Keywords: Biological development, centesimal analysis, *Helicoverpa armigera*, hosts.

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie polífaga, com grande capacidade destrutiva (Zalucki et al. 1986; Liu et al. 2004; Talekar et al. 2006) e ampla distribuição geográfica (Zalucki e Furlong 2005). Sua presença está associada com perdas econômicas em várias culturas de importância agrícola ao redor do mundo (Naseri et al 2009; 2011; Cunningham e Zalucki 2014). Estima-se que os prejuízos decorrentes do ataque desse inseto nas lavouras de todo o mundo atinjam US \$ 4 bilhões ao ano (Kriticos et al. 2015), incluindo-se os danos às plantas e os custos relacionados às táticas de manejo. Durante a fase larval, indivíduos de *H. armigera* se alimentam de diferentes estruturas vegetais e podem ser encontrados sobre folhas e hastes das plantas hospedeiras; porém, apresentam marcante preferência pelas estruturas reprodutivas, como botões florais, frutos, vagens, espigas e inflorescências (Moral Garcia 2006, Perkins et al. 2008; 2009, Yamasaki e Fujisaki 2010).

Devido à polifagia, os imaturos de *H. armigera* ficam sujeitos a dietas com valores nutricionais variados em seus diversos hospedeiros naturais, os quais ocasionam diferentes efeitos sobre o seu desenvolvimento (Ruan e Wu 2001; Schellhorn et al. 2008). Variações nutricionais qualitativas e quantitativas dos alimentos influenciam diretamente a performance dos insetos, acarretando em alterações no tempo de desenvolvimento, tamanho e peso dos indivíduos (Sarfraz et al. 2006, Yamasaki e Fujisaki 2010). Em função disso, a disponibilidade dos hospedeiros tem impacto direto sobre os surtos populacionais do inseto (Southwood e Henderson 2000) e está diretamente relacionada com a dinâmica populacional da praga em sistemas de produção (Maelzer e Zalucki 1999, Kennedy e Storer 2000, Krishnareddy e Hanur 2015).

No Brasil, *H. armigera* foi oficialmente registrada em 2013 em áreas de Cerrado (Sosá-Gomez et al. 2016), especialmente onde o sistema de produção intensivo intercala três hospedeiros preferenciais do inseto: algodão, milho e soja (Reigada et al. 2016). Para o algodoeiro, os maiores danos do inseto são observados nas maçãs (Kumar e Saini 2008). Em milho, as larvas de *H. armigera* concentram seu ataque nas espigas (Bentivenha et al. 2016) e, na soja, os danos são direcionados principalmente às vagens (Naseri et al. 2009).

Esses hospedeiros são cultivados extensivamente e sequencialmente com janelas de plantio e colheita que se sobrepõem entre as safras. Embora esta rotação contínua permita a máxima exploração das áreas de cultivo e propicie melhorias à qualidade do solo, esse sistema também oferece disponibilidade contínua de alimento à praga. Além disso, durante a entressafra, na maioria dos locais são cultivadas plantas de cobertura como milheto, nabo forrageiro, crotalária, os quais também são hospedeiros potenciais de *H. armigera* e possibilitam a permanência de populações do inseto até o próximo período chuvoso.

No intuito de investigar a adequação de diferentes dietas (artificiais e naturais) para *H. armigera* no velho mundo, diversos estudos foram realizados desde a última década (Liu et al. 2004, Nazeri et al. 2009, Soleimannejad et al. 2010, Fathipour e Naseri 2011, Arghand et al. 2011, Hemanti et al. 2012, Naseri e Razmjou 2013, Cunningham e Zalucki, 2014, Rahimi Namin et al. 2014, Hosseininejad et al. 2015, Yue et al. 2016). Após sua detecção no Brasil, alguns trabalhos avaliaram parâmetros biológicos do inseto sob diferentes dietas (Azambuja et al. 2015, Barbosa et al. 2016, Reigada et al. 2016), porém, em nenhum deles, os aspectos nutricionais dos hospedeiros foram correlacionados à performance de *H. armigera*.

Assim, este estudo teve como objetivo comparar parâmetros biológicos de *H. armigera* nas três principais 'commodities' (algodão, milho e soja) do cerrado brasileiro e em dieta artificial. Considerando-se que *H. armigera* pode se desenvolver nas diversas estruturas da planta hospedeira, foram avaliados tecidos vegetativos (folhas desenvolvidas dos três hospedeiros) e reprodutivos (maçã do algodoeiro, vagem da soja, estilo-estigmas e grãos de milho). Também se realizou a análise centesimal dos tecidos vegetais a fim de se estabelecer correlações entre as variáveis nutricionais de cada tecido vegetal e os parâmetros biológicos de *H. armigera*. Considerando-se o número de publicações sobre esta espécie em dietas artificiais (Krishnareddy e Hanur 2015, Barbosa et al. 2016), para a análise de dados, incluímos também resultados prévios obtidos com a mesma população em dieta artificial, visando comparações de performance da praga em hospedeiros naturais e meio artificial. As informações poderão ampliar o entendimento sobre as interações entre o inseto e as três plantas hospedeiras. Em adição, a descoberta de performance diferenciada nas estruturas

vegetais pode auxiliar na previsão de surtos expressivos do inseto, com impacto direto sobre as estratégias do MIP a serem adotadas nas lavouras de algodão, milho e soja.

Material e métodos

Origem dos insetos e manutenção em laboratório

Este estudo utilizou insetos de *H. armigera*, cujas larvas foram coletadas em frutos de citros no município de São Paulo, SP (22°53'09"S; 48°26'42"W). Nas gerações seguintes, as lagartas foram alimentadas com dieta artificial (capítulo 1), em condições controladas (25±2°C, 70±10% U.R. e 14h de fotofase). Os adultos foram alimentados, via capilaridade, com uma solução de mel à 10% em porções de algodão (Parra 2009). Foi também oferecida outra porção de algodão contendo apenas água para suprir as necessidades hídricas dos insetos.

A identificação da espécie foi realizada considerando-se a morfologia da genitália masculina (Pogue 2004) no Laboratório de Entomologia da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. Todos os insetos utilizados nos experimentos foram provenientes da criação em dieta artificial, a fim de evitar condicionamento pré-imaginal. Mais detalhes sobre os procedimentos de criação podem ser obtidos no capítulo 1.

Plantas hospedeiras e estruturas utilizadas como dieta

Como plantas hospedeiras foram utilizadas cultivares convencionais de algodão (FMT 709), milho (AL Bandeirante) e soja (BRS 284), adaptadas às condições edafoclimáticas do Estado de São Paulo. As sementes das três cultivares foram adquiridas junto à Fundação MT, CATI e EMBRAPA, respectivamente.

As plantas hospedeiras foram cultivadas em vasos plásticos com capacidades para 8, 11 e 5 litros, respectivamente. O substrato utilizado foi composto por uma mistura de terra, areia lavada e esterco de gado curtido, na proporção de 2:1:1. Todas as plantas foram mantidas em casa de vegetação, cultivadas livres de aplicação de produtos químicos e infestação de insetos. As plantas de milho receberam adubação nitrogenada (ureia) em cobertura aos 40 dias após a germinação (Coelho e França

1995). As plantas receberam irrigação e os demais tratamentos normalmente recomendados para as culturas.

Para a obtenção das diferentes estruturas vegetais (folhas, vagens, maçãs, grãos e estilo-estigmas) no mesmo período, foram realizados plantios em épocas distintas, conforme a fenologia de cada cultura. As folhas de algodão, milho e soja foram colhidas quando as plantas se encontravam no início do estágio vegetativo (V3 ao V5) (Marur e Ruano 2001), (V2 ao V4) (Ritchie e Hanway 1989) e (V2 ao V5) (Ritchie et al. 1982), respectivamente. As maçãs de algodão foram colhidas no estágio B3 (botões florais do terceiro ramo reprodutivo visíveis) (Marur e Ruano 2001). Para o milho, as coletas dos estilo-estigmas foram iniciadas quando a planta se encontrava no estágio R1 (início do “embonecamento” ou antes da fecundação e formação dos grãos) e as espigas para o fornecimento dos grãos foram colhidas em R3 e R4 (grãos “leitosos e/ou pastosos”) (Ritchie e Hanway 1989). As vagens da soja, foram utilizadas no estágio R6 (grãos verdes e com preenchimento de toda a cavidade da vagem) (Ritchie et al. 1982).

Análise centesimal das dietas

As análises centesimais das dietas foram realizadas pelo Centro de Qualidade Analítica (CQA[®]), em Campinas, SP. Utilizou-se a metodologia de análise proposta por AOAC (2010) e FDA (2010), seguindo a Resolução RCD nº 360 (RCD 360/2003-Brasil). Para possibilitar comparações entre as dietas naturais e artificial foram utilizados dados dos componentes que tiveram valores detectáveis na maior parte das dietas. Assim, foram considerados valores referentes a carboidratos, cinzas, ferro, fibra alimentar total, fósforo, gorduras insaturadas, gorduras saturadas, magnésio, manganês, potássio, proteína total, sódio, valor energético, zinco e ácidos graxos livres.

Ensaio de biologia comparada

Os ensaios de biologia comparada foram feitos no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas (LARESPI), do Departamento de Proteção Vegetal da FCA-UNESP, Botucatu, SP, sob condições controladas ($T = 25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ U.R. e 14h de fotofase).

Acompanhou-se o desenvolvimento de 100 indivíduos neonatos de *H. armigera*, os quais foram individualizados e identificados em placas de Petri, utilizando-se oito tratamentos: T1= folhas de algodão; T2= maçã de algodão; T3= folhas de milho; T4= grãos de milho; T5= estilo-estigmas de milho; T6= folhas de soja; T7= vagens de soja; T8= dieta artificial. As placas foram internamente forradas com papel germitest umedecido, visando manter a turgescência dos materiais vegetais. A complementação ou substituição de porções da dieta foi feita conforme a necessidade. Diariamente, realizou-se a limpeza das placas, removendo os excrementos e restos de dieta, evitando assim, possíveis contaminações. Durante os ensaios, a confirmação dos instares larvais foi feita por meio da análise das ecdises dos indivíduos em observação.

O fornecimento das dietas foi cessado assim que as larvas entraram no período pré-pupal, caracterizado pela interrupção da alimentação e diminuição do tamanho. Neste momento, adicionou-se 0,5 cm³ de vermiculita expandida umedecida em água em cada placa, a fim de fornecer umidade e favorecer a elaboração da câmara pupal. Após a pupação (48h), os indivíduos foram pesados em balança semi analítica e examinados para identificação do sexo (Kirkpatrick 1961). A manutenção diária das pupas restringiu-se a manter a umidade da vermiculita, aplicando-se algumas gotas de água, até a emergência dos adultos.

Os resultados dos parâmetros biológicos de *H. armigera*, obtidos com diferentes tecidos vegetais foram comparados com os já descritos para a mesma população em dieta artificial (capítulo 1). Para tanto, seus dados originais (brutos) foram incluídos em todas as análises comparativas.

Os ensaios foram avaliados diariamente, desde a eclosão até o final da fase pupal ou morte, permitindo a obtenção dos seguintes parâmetros: período de duração (dias) larval, pré-pupal, pupal e total da fase imatura, viabilidade larval (%). Obteve-se também o peso (mg) de pupas, com auxílio de balança semi-analítica (AL-500, Marte Científica®, São Paulo, SP).

Análises estatísticas

Uma vez que os dados não apresentaram distribuição normal, foram aplicados testes não-paramétricos. O Teste de Mann-Whitney, indicado para testar se duas amostras

independentes são provenientes da mesma população, foi utilizado para comparar o peso de pupas entre os sexos em cada tipo de dieta.

Para verificação de diferença das variáveis respostas: período larval, pré-pupal, pupal e total e peso pupal foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, utilizado para comparação de três ou mais grupos independentes (Siegel e Castellan 2006). A ordenação dos tratamentos considerou a ordem de grandeza das medianas, utilizando-se uma matriz de "P" valores.

Para avaliar a correlação entre os parâmetros biológicos e os principais componentes dos tecidos vegetais de cada dieta foram aplicados testes de correlação de Spearman utilizando o pacote FactoMineR presente no software estatístico R, livremente disponível no website: <http://www.r-project.org>. Foram correlacionados os parâmetros temporais (em dias) de larva, pré-pupa, pupa e total da fase imatura além do peso pupal com as variáveis das dietas acidez livre, carboidratos, cinzas, ferro, fibra alimentar total, fósforo, gorduras insaturadas, gorduras saturadas, magnésio, manganês, potássio, proteína total, sódio, valor energético, zinco, ácidos graxos livres. Utilizou-se a correlação de Spearman em função do desvio dos dados no que se refere à normalidade, da presença de variáveis ordinais e por não haver linearidade entre as variáveis estudadas.

Realizou-se também uma análise de componentes principais e correlação de Pearson, para identificar, entre as variáveis estudadas, quais contribuíram com maior peso na combinação linear dos dois primeiros componentes principais. Os eixos x e y, denominados componentes principais, podem ser vistos como "super variáveis", construídas pela combinação da correlação entre as variáveis analisadas. Estes são extraídos em ordem decrescente de importância, de acordo com sua contribuição para a variação total dos dados. Os componentes principais, dispostos num espaço de duas dimensões, representam variabilidade suficiente que possa indicar algum padrão a ser interpretado. Para auxiliar na interpretação dos resultados, além do círculo unitário de correlações entre os autovetores das variáveis, foram construídos diagramas de ordenação das dietas naturais constituídas por algodão (folha e maçã), milho (folha, grão e estilo-estigma) soja (folha e vagem) e dieta artificial. Todas as análises foram realizadas pelo software Estatístico R, versão 3.2.2.

Resultados

Análise centesimal das dietas

A análise centesimal revelou grandes variações entre os parâmetros, com diferenças expressivas (até mais de 30 vezes) entre as dietas, especialmente com relação aos teores de carboidrato, fósforo, potássio e valor energético (Tabela 1). Verificou-se valores que variaram de 1 g/100g de carboidratos presentes (folha de milho) até próximos a 30 g/100g (grãos de milho). Os teores de fósforo encontrados no estilo-estigma de milho (13,74 mg/100g) foram menores em relação aqueles encontrados nas folhas de soja (830 mg/100g). O menor valor detectado para potássio foi de 258,82 mg/100g (grãos de milho), enquanto que o maior valor foi encontrado em vagens de soja (5.000 mg/100g). Grandes variações também foram observadas no valor energético dos diferentes tecidos, sendo o menor valor detectado no estilo-estigma do milho (41,00 Kcal/g) e o maior valor em grãos de milho (136,00 Kcal/g) (Tabela 1).

Ensaio de biologia comparada em dietas naturais e artificial

A duração das fases biológicas de *H. armigera* variou significativamente conforme os tecidos ofertados como fonte alimentar (Tabela 2). A maior duração da fase larval foi verificada quando os indivíduos se alimentaram de maçãs de algodão, seguidos por folhas de soja e folhas de algodão ($\chi^2=7,34$; gl=7; $P=0,227$), diferindo das dietas à base de vagens de soja e artificial que mostraram as menores médias. Para o período pré-pupal, a maior média de duração foi verificada no tratamento com vagens de soja ($\chi^2=2,16$; gl=7; $P=0,0118$), enquanto que a dieta artificial proporcionou o menor período de duração. Na fase pupal, a maioria dos tratamentos apresentou média de duração ao redor de 11 dias, com exceção da dieta artificial, que proporcionou a menor fase pupal ($\chi^2=12,67$; gl=7; $P=0,0020$). Considerando-se toda a fase imatura, as maiores médias de duração foram observadas com maçãs de algodão e folhas de soja ($\chi^2=4,98$; gl=7; $P<0,0001$), diferindo da dieta artificial, folhas de milho, grãos de milho e vagens de soja, que permitiram o término da fase imatura mais rapidamente.

Os maiores índices de viabilidade larval de *H. armigera* foram verificados quando os insetos se alimentaram da dieta artificial (>60%) e das folhas (56%) e grãos (54%) de milho (Fig. 1). As folhas de algodão e estilo-estigmas de milho

proporcionaram as menores viabilidades (<30%) para a fase larval. As demais dietas mostraram viabilidades intermediárias.

O número de instares larvais de *H. armigera* variou conforme a dieta oferecida aos insetos (Fig. 2). Em geral, houve maior incidência de indivíduos que passaram por seis instares em relação aos que passaram por sete instares, exceção feita às maçãs de algodão (50% e 50%) e grãos de milho (42% e 58%). Nas dietas à base de estilo-estigmas de milho e folhas de soja, os insetos não passaram pelo sétimo instar.

Independente do sexo, as maiores médias para o peso pupal foram obtidas quando os imaturos se alimentaram de maçãs de algodão e vagens de soja ($P<0,05$) (Fig. 3). Sob dieta artificial e estilo-estigma de milho, os machos de *H. armigera* apresentaram maior peso pupal ($\chi^2=7,47$; $gl=1$; $P<0,0001$), em comparação com as fêmeas.

Análise de componentes principais

A análise de componentes principais, realizada com os dados referentes aos componentes de cada uma das dietas, revelou que o primeiro (dimensão 1 – ou eixo horizontal) juntamente com o segundo (dimensão 2 – ou eixo vertical) eixos explicaram 73,41%; 71,47% e 71,48% da variabilidade total dos dados referentes à duração das fases larval, pupal e do peso pupal, respectivamente (Tabela 3, Fig. 4).

Nos círculos de correlação (Fig. 4 A, C, E), verifica-se grande variação entre os três parâmetros biológicos de *H. armigera* com relação aos componentes da dieta. As correlações entre os componentes das dietas mantiveram-se muito semelhantes. Nos eixos horizontais, as variáveis que mais influenciaram (mais próximas ao eixo) positivamente foram: fósforo, potássio, gorduras saturadas, fibra alimentar, gorduras insaturadas, magnésio e zinco; negativamente foram: ácidos graxos livres e manganês. Nos eixos, verticais as variáveis que mais influenciaram positivamente foram: manganês, ácidos graxos livres e proteína total e negativamente foram: sódio e valor energético (Tabela 3).

Nos diagramas de ordenação das dietas, em função dos componentes e parâmetros de desenvolvimento dos imaturos de *H. armigera* (Fig. 4 B, D, F), observou-se que, de forma similar aos círculos de correlação, as disposições das dietas se mantiveram semelhantes com relação os parâmetros de desenvolvimento.

Destaca-se que a dieta artificial e que o tratamento à base de vagem de soja se distanciaram muito entre si das demais dietas. Também verificou-se uma maior proximidade entre folhas de milho e maçãs do algodoeiro e uma proximidade relativa entre folhas de soja e de algodoeiro e entre estilo-estigmas e grãos de milho.

Correlação entre componentes da dieta e parâmetros biológicos

Houve correlação significativa entre os valores dos parâmetros de cada dieta estudada (exceto carboidratos e magnésio) quanto à duração da fase larval de *H. armigera* (Tabela 4). A duração do período pupal foi significativamente influenciada pelos parâmetros cinzas, gordura saturada, manganês, potássio e ácidos graxos livres.

O peso pupal (mg) correlacionou-se significativamente com as variações dos parâmetros carboidratos, cinzas, fibra alimentar, gorduras insaturadas e saturadas, proteína total, sódio e ácidos graxos livres (Tabela 4).

Discussão

Estudos de performance biológica de espécies de Noctuidae sob diferentes hospedeiros são de grande importância para um melhor entendimento de aspectos relacionados à sua sobrevivência e dispersão (Kennedy e Storer 2000, Silva et al. 2017). O conhecimento sobre as variações no período de desenvolvimento e no fluxo migratório de lepidópteros é fundamental para a compreensão da dinâmica populacional das espécies no cenário agrícola (Tisdale e Sappington 2001). Embora já existam trabalhos que avaliaram o desenvolvimento de *H. armigera* em diferentes hospedeiros (Liu et al. 2004, Razmjou et al. 2014, Hosseini et al. 2015), poucos estudos relacionaram a performance larval deste inseto em diferentes tecidos de uma planta hospedeira. Adicionalmente, nenhuma correlação entre performance biológica de *H. armigera* e composição nutricional de hospedeiros potenciais encontra-se disponível na literatura. A preferência alimentar de uma determinada espécie implica diretamente sobre a reprodução e permanência dos indivíduos no hospedeiro ao longo das gerações e pode determinar o sucesso do artrópode na planta hospedeira (Green et al. 2002, Rajapakse e Walter 2007). Obviamente, esse sucesso na colonização está

correlacionado ao valor nutricional que cada hospedeiro pode oferecer ao inseto fitófago (Umbanhowar e Hastings 2002).

Os resultados deste estudo revelaram que as diferentes dietas naturais (estruturas de algodão, milho e soja) e artificial avaliadas afetam significativamente a performance de imaturos de *H. armigera*, podendo provocar alterações no período de duração, no peso da fase imatura, além de reduzirem a viabilidade larval.

Insetos que se alimentaram de maçãs de algodão e folhas de soja apresentaram maiores períodos larvais e, conseqüentemente, maior duração da fase imatura (larva-adulto) em comparação com as demais dietas, sugerindo serem menos adequadas ao inseto. Para algumas espécies de Lepidoptera, o prolongamento no período de desenvolvimento indica uma ação compensatória, onde larvas submetidas a uma alimentação com baixo valor nutricional tendem a se recuperar do estresse alimentar alongando a fase imatura (Silva et al. 2017). De tal forma, o alongamento no ciclo permitiria que as larvas se tornassem capazes de completar o processo de pupação, fase de grande custo nutricional/energético para o inseto (Parra et al. 2009). Em geral, o desenvolvimento do inseto é afetado por sua fonte alimentar e a qualidade desse alimento acarretará em pequenas ou grandes variações ao longo do ciclo (Barros et al. 2010). Isso poderia explicar as diferenças de duração nas fases imaturas de *H. armigera* verificadas neste trabalho

Nos tecidos vegetativos e reprodutivos dos hospedeiros avaliados (soja, milho e algodão), os índices de viabilidade larval variaram de 22% a 55%, enquanto que na dieta artificial a viabilidade foi de 62%. As folhas de milho (56%) apresentaram o índice de viabilidade mais próximo da dieta artificial, confirmando os dados obtidos por outros autores que destacaram as qualidades nutricionais das plantas de milho e seu potencial para o aumento populacional de *H. armigera* (Maelzer e Zalucki 1999, Scott et al. 2006, Fefelova e Frolove 2008). Os estilo-estigmas de milho (22%), seguidos pelas folhas de algodão (27%) e de soja (34%) revelaram-se as dietas naturais menos favoráveis ao desenvolvimento larval de *H. armigera* em comparação com as demais dietas. Embora as estruturas reprodutivas de milho (grãos), soja (vagens) e algodão (maçãs) tenham permitido aumento da viabilidade (38-54%), nenhuma dessas estruturas equiparou-se à dieta artificial. Contudo, deve-se destacar que o índice de viabilidade larval para as espécies de Lepidoptera é geralmente baixo em função da

elevada taxa de mortalidade que ocorre nos instares iniciais (Zalucki et al. 2002). Segundo os mesmos autores, além dos aspectos nutricionais aqui discutidos, outros fatores importantes de mortalidade de lepidópteros a campo estão relacionados à predação, parasitismo, doenças e clima.

Os dados de viabilidade do presente estudo sugerem que os indivíduos de *H. armigera* não encontraram condições ótimas para o desenvolvimento quando alimentados com os hospedeiros naturais avaliados (viabilidade máxima de 56%). Esses resultados devem estimular maiores estudos sobre a relação entre preferência para oviposição do inseto e sua performance larval (Jallow e Zalucki 2003, Cunningham e Zalucki 2014). Nesse sentido, assume-se que nem sempre o local de escolha das fêmeas de *H. armigera* para oviposição garante desenvolvimento satisfatório da prole, uma vez a maioria das mariposas utiliza prioritariamente fatores físicos e químicos para a escolha inicial do hospedeiro (Cunningham e Zalucki 2014).

Além das diferenças verificadas nos períodos de duração, o peso pupal de *H. armigera* foi significativamente afetado pelas dietas oferecidas, sendo mais elevado no tratamento com maçãs de algodão (0,328 mg) em comparação com os demais tecidos, o que seria uma vantagem para essa dieta. Um menor peso sugere o consumo de alimento pouco adequado durante a fase larval e poderia acarretar em desvantagens nutricionais e adaptativas durante a fase adulta (Liu et al. 2009, Yamasaki e Fujisaki 2010).

Quanto ao número de instares larvais de *H. armigera*, em geral (exceto estilo-estigma de milho e folhas de soja) as larvas atingiram até sete instares, semelhante ao descrito por outros autores (Reigada et al. 2016) que acompanharam a biologia do inseto em hospedeiros naturais. No entanto, houve predominância de indivíduos com seis instares, corroborando outros estudos (Hardwick 1965, Arghand 2011 e Razmjou et al. 2014), que descreveram uma variação de cinco a sete instares para *H. armigera*, sendo seis o número mais encontrado. Segundo os autores, fatores como temperatura, alimento, fotoperíodo e umidade (Esperk et al. 2007) e a herança genética (Razmjou et al. 2014) são os responsáveis por essas variações.

Fatores quali e quantitativos dos nutrientes podem também ter influência sobre o peso pupal até mesmo na comparação entre indivíduos machos e fêmeas. De maneira geral, as fêmeas de Lepidoptera são maiores que os machos (Stillwell et al.

2010) e também mais pesadas (Specht e Roque-Specht 2016). Entretanto, existem consideráveis diferenças quanto ao peso e o sexo dentro de uma mesma ordem e até mesmo dentro de uma população. Nossos resultados mostraram que os indivíduos machos de *H. armigera* tende a ser mais pesados que as fêmeas, o que já foi verificado em outros trabalhos (Chen et al. 2014, Reigada et al. 2016).

A adequação de uma planta como boa hospedeira está diretamente relacionada ao equilíbrio de seus nutrientes (aminoácidos, carboidratos, lipídios, ácidos graxos, vitaminas e minerais) e da água, constituintes fundamentais para o desempenho adequado dos insetos (Behmer 2009).

A análise centesimal realizada com as dietas investigou a presença de 50 constituintes, não comuns para todas elas (vide anexos). Muitos destes constituintes foram detectados em valores inferiores a 0,01g/100g; contudo, seu papel no desenvolvimento biológico de *H. armigera* não pode ser descartado, conforme discutido na literatura (Parra et al. 2009). Dentre os constituintes encontrados, 14 foram comuns a todas as dietas, os quais correlacionaram-se significativamente com as fases larval e pupal e/ou peso pupal, exceção feita ao magnésio.

Variações nutricionais existentes entre as diferentes plantas hospedeiras somadas as diferenças entre indivíduos de uma mesma espécie, condições ambientais (solo, luz e umidade) (Behmer 2009), bem como as diferenças dentro de uma única planta (ex: idade das folhas) (Yamasaki et al. 2009) são fatores-chave para as variações biológicas. Embora não tenha sido investigado neste estudo, outro fator que poderia ter afetado a sobrevivência das larvas de *H. armigera* é a presença de metabólitos secundários, os quais atuam como fatores de resistência natural das plantas contra o ataque de insetos fitófagos (Guo et al. 2013). Essas substâncias influenciam o crescimento e sobrevivência dos insetos (Piubelli et al. 2005), até mesmo em plantas consideradas hospedeiras primárias de *H. armigera*, como o algodão (Cunningham e Zalucki 2014).

Correlações entre os componentes das dietas e o desenvolvimento dos insetos têm sido feita apenas com dietas artificiais, onde é possível estimar a composição em função dos ingredientes utilizados (Parra et al. 2009; Cohen 2004), sem avaliar perdas por desnaturação e alterações pelo processamento, especialmente durante o cozimento. Neste sentido, o presente estudo representa um avanço, onde a análise

centesimal possibilitou relacionar o desenvolvimento de imaturos de *H. armigera* com diversos componentes de dietas naturais e artificial.

O maior número de correlações significativas (12) foi verificado entre os componentes das dietas e período larval. Esse fato está associado à digestão, absorção e assimilação dos nutrientes e histogênese próprios da fase larval (Scriber e Slansky 1981, Moreau et al. 2006). Por outro lado, na fase pupal, os nutrientes já foram assimilados e participam apenas dos processos de histólise (Awmack e Leather 2002, Moreau et al. 2006), o que poderia explicar o menor número de correlações significativas (5).

Dos 12 componentes da dieta que afetam significativamente a duração da fase larval, metade apresentou correlação negativa, indicando uma diminuição do tempo de desenvolvimento a partir de seus incrementos. As fibras alimentares apesar de serem um tipo de carboidrato, apresentam ligações beta-glicosídicas e promovem a mobilidade intestinal, auxiliando a liberação de toxinas; o fósforo é importante para atividades bioenergéticas, como por exemplo formação de ATP; o manganês é cofator enzimático de reações de hidrólises, quinases, descarboxilases e transferases, bem como, constituinte de metaloenzimas; o zinco auxilia as enzimas responsáveis pela síntese de proteínas e no metabolismo de carboidratos. Com relação às proteínas totais, obtidas de diversas fontes, os insetos necessitam de nitrogênio em quantidade adequada para a elaboração de tecidos e manutenção de atividades vitais; os ácidos graxos livres são associados ao metabolismo lipídico dos insetos e por apresentarem partes polares e apolares, conseguem se dissolver em água e outros compostos lipídios, influenciando o mecanismo de digestão, transporte e metabolismo (Cohen 2004, Parra et al. 2009).

Para os demais componentes onde se observou correlação positiva entre as suas quantidades e a duração do período larval, destacaram-se seis componentes. As cinzas são compostos na forma de óxidos, sulfatos e fosfatos, constituídas de uma combinação de minerais cuja identificação isolada dos componentes é difícil, especialmente por não serem detectáveis pelos métodos analíticos convencionais. Assim, não é possível identificar quais elementos das cinzas beneficiam ou prejudicam o desenvolvimento dos insetos, uma vez que não existe uma determinação exata da necessidade de cada mineral e sua influência no organismo do inseto. Por fim, a ação

conjunta destes minerais é complexa podendo haver comportamento sinérgico, antagônico ou neutro. As principais gorduras saturadas presentes nos vegetais são os triacilgliceróis, uma molécula de glicerol ligada a três ácidos graxos. Por serem moléculas grandes, os insetos necessitam dispendir mais energia para metabolizá-las, afetando o seu desenvolvimento. Devido à presença de ligações duplas nas moléculas de gorduras insaturadas, essas são mais facilmente metabolizadas para serem usadas no metabolismo dos insetos. Por outro lado, podem afetar a estabilidade das gorduras levando-as à oxidação e à formação de substâncias tóxicas indesejáveis. Sódio e potássio atuam conjuntamente no processo de regulação da água para dentro da célula e valores desses elementos superiores às necessidades metabólicas dos insetos, promovem desequilíbrio do sistema homeostático. Assim como as cinzas representam diversos elementos, o valor energético encontra-se associado a diferentes componentes das dietas, dificultando a compreensão da sua relação, que pode ser individual ou conjunta (Cohen 2004, Moreau et al. 2006, Parra et al. 2009).

Com relação ao peso pupal, oito dos componentes das dietas correlacionaram-se significativamente, incluindo os carboidratos, que não haviam se correlacionado com a duração larval e pupal. Os componentes da dieta que se correlacionaram positivamente com o peso das pupas foram: carboidratos, gorduras insaturadas, proteína total e ácidos graxos livres. Estes componentes são associados à nutrição quantitativa dos insetos, ou seja, são importantes para os insetos não somente com relação às exigências nutricionais básicas, mas também com a quantidade de alimento ingerido, digerido, assimilado e convertido em tecidos de crescimento (Cohen 2004, Behmer 2009, Parra et al. 2009). Por outro lado, cinzas, fibra alimentar, fósforo, gorduras saturadas e sódio, estiveram correlacionados negativamente com o peso pupal.

Como discutido anteriormente, as cinzas apresentam uma combinação de diversos elementos, sendo difícil avaliar a influência isolada de cada um. As fibras alimentares estão associadas à liberação de toxinas, entretanto, em quantidades expressivas podem influenciar o aumento do trânsito intestinal, dificultando o aumento de peso das pupas. As gorduras saturadas são constituídas de ligações simples, de difícil metabolização. Dessa forma, os insetos necessitam de um aporte maior de

energia para promover a clivagem dessas moléculas e como consequência, essa energia é desviada de funções estruturais, como histogênese, para serem empregadas na lipólise. O sódio participa de processo de equilíbrio iônico da célula, regulando a quantidade de água intra e extracelular (Scriber e Slansky 1981, Moreau et al. 2006). Sua presença pode estar associada a um menor teor de água armazenado durante a fase larval.

As correlações realizadas revelam um caminho para analisar a influência dos teores de cada componente na biologia de *H. armigera*, por meio de análise centesimal. No entanto, deve-se atentar para todas as interações entre os componentes das diferentes dietas, incluindo os quais não são detectados nas análises e que sabidamente são essenciais para o desenvolvimento dos insetos (Scriber e Slansky 1981, Cohen 2004, Moreau et al. 2006, Behmer 2009, Parra et al. 2009).

Os percentuais cumulativos da variância (acima de 70%), demonstraram por meio da análise de componentes principais, a influência de cada constituinte sobre as variáveis biológicas do inseto. Nos círculos de correlação, as variáveis que mais influenciaram foram as mesmas destacadas pela correlação de Pearson. Com relação aos resultados apresentados nos diagramas de ordenação das dietas por parâmetros biológicos de *H. armigera*, destacam-se a dieta artificial e as vagens de soja que se distanciaram muito entre si das demais dietas. Considerando-se a maior viabilidade larval na dieta artificial, isso sugere que as proporções encontradas dos principais constituintes desse substrato são consideradas mais adequada em comparação às demais dietas (Behmer 2009, Parra et al. 2009). Esse balanceamento dos nutrientes é essencial para o bom desenvolvimento de insetos em criações de laboratório (Behmer 2009).

Em Lepidoptera, os maiores problemas na eficiência da conversão e assimilação dos nutrientes estão relacionados com a quantidade de água presente nas diferentes dietas, sendo esse o componente com maior importância, uma vez que é um solvente para maioria dos compostos. O teor médio de umidade exigida para a maioria dos insetos é de aproximadamente 70% (Cohen 2004, Moreau et al. 2006); e as três maneiras de obtenção de água pelos insetos são realizadas através do alimento, do ambiente e por meio da produção de água metabólica. De modo geral,

quanto maior a quantidade de água formada durante o processo de oxidação de proteínas, carboidratos e gorduras maior será a eficiência da conversão desses nutrientes para o desenvolvimento do inseto. Isso poderia explicar porque algumas dietas como a vagem de soja e a dieta artificial se distanciam das demais em relação aos diferentes parâmetros biológicos de *H. armigera*. Assim, nas vagens de soja pode ter ocorrido um desequilíbrio do sistema homeostático devido ao elevado teor de potássio encontrado nessa dieta, na comparação com as demais.

De maneira inédita, este estudo identificou e quantificou os principais componentes nutricionais de dietas naturais e artificial e correlacionou com parâmetros de desenvolvimento de *H. armigera*. A metodologia empregada oferece uma nova perspectiva com relação a avaliação da composição de dietas e seus efeitos sobre os insetos.

Considerando-se todos os resultados obtidos, a dieta artificial se revelou como o substrato mais adequado ao desenvolvimento de *H. armigera*, na comparação com as dietas naturais avaliadas. No entanto, não se deve descartar a variabilidade na composição nutricional dos hospedeiros naturais a campo, bem como a oferta mista a partir de diferentes partes da planta ou migração entre espécies vegetais durante a fase larval do inseto.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo fornecida ao primeiro autor. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa (processo nº 303892/2016-1), oferecida ao segundo autor e pelos auxílios (processos nº 403376/2013-0, nº 476691/2013-3; proc. nº 47304/2013-8). À EMBRAPA, pelo auxílio à pesquisa (02.13.14.006.00.00).

Referência citadas

AOAC. 2010. Official methods of analysis, 18th edition, Maryland/USA; Current Through – Revision 3.

Arghand, A., Naseri, B., Razmjou, J., Hassanpour, M. 2011. Feeding indices of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on seed of five different maize hybrids. In: Proceedings of global conference on entomology, Chiang Mai, Thailand, pp. 5–9.

Awmack, C. S., Leather, S. R. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. Annu. Rev. Entomol. 47: 817–44

Azambuja, R., Degrande, P. E., dos Santos, R. O., Souza, E. P., Gomes, C. E. C. 2015. Effect of Bt Soybean on Larvae of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). J. Agr. Sci. 7: 90-94.

Barbosa, T. A. N., Mendes, S. M., Rodrigues, G. T., Ribeiro, P. E. A., Santos, C. A., Valicente, F. H., Oliveira, C. M. 2016. Comparison of biology between *Helicoverpa zea* and *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) reared on artificial diets. Fla. Entomol. 99: 72-76.

Barros, E., Torres, J. B., Ruberson, J. R., Oliveira, M. D. 2010. Development of *Spodoptera frugiperda* on different hosts and damage to reproductive structures in cotton. Ent. Exp. Applicata. 137: 237-245.

Behmer, S. T. 2009. Insect herbivore nutrient regulation. Ann. Rev. Entomol. 54: 165-187.

Bentivenha, J. P. F., Paula-Moraes, S. V., Baldin, E. L. L., Specht, A., Silva, I. F., Hunt, T. E. 2016. Battle in the New World: *Helicoverpa armigera* versus *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). PLoS One 11: e0167182. doi:10.1371/journal.pone.0167182.

Brambila, J. 2009. Instructions for dissecting male genitalia of *Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae) to separate *H. zea* from *H. armigera*. USDA-APHIS-PPQ.

Coelho, A. M., França, G. E. 1995. Seja o doutor do seu milho: nutrição e adubação. 2 ed. Informações Agronômicas, Piracicaba, n. 71, p. 1-9. Arquivo do Agrônomo, Piracicaba.

Chen, C., Xia, Q-W., Xiao, H-J., Xiao, L., Xue, F-S. 2014. A comparison of the life-history traits between diapause and direct development individuals in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. J. Pest Sci. 14: 1-12.

Cohen, A. C. 2004. Insect Diets: Science and Technology. CRC Press Second, New York, 324p.

Cunningham, J. P., Zalucki, M. P. 2014. Understanding heliothine (Lepidoptera: Heliothinae) pests: what is a host plant? J. Econ. Entomol. 107: 881-896. doi: 10.1603/EC14036.

Esperk, T., Tammaru, T., Nylin, S. 2007. Intraspecific variability in number of larval instars in insects. J. Econ. Entomol. 100: 627-645.

Fathipour, Y., Naseri, B. 2011. Soybean cultivars affecting performance of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). In: Soybean biochemistry, chemistry and physiology. Croatia, pp. 599–630.

Fefelova, A. Y., Frolove, A. N. 2008. Distribution and mortality of corn earworm (*Helicoverpa armigera*, Lepidoptera, Noctuidae) on maize plants in Krasnodar territory. Entomol. Rev. 88: 480–484.

FDA Food And Drug. 2010. Administration. Elemental analysis manual. United States of America. Section 4, 4. Inductively coupled plasma? Atomic emission spectrometric determination of elements in food using microwave assisted digestion.

Guo, J-Y., Wu, G., Wan, F-H. 2013. Effects of high-gossypol cotton on the development and reproduction of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) MEAM1 cryptic species. J. Econ. Entomol. 106: 1379-1385.

Green, P. W. C., Stevenson, P. C., Simmonds, M. S. J., Sharma, H. C. 2002. Can larvae of the pod-borer, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), select between wild and cultivated pigeonpea *Cajanus* sp. (Fabaceae)? Bull. Entomol. Res. 92: 45–51.

Hardwick D. 1965. The corn earworm complex. Mem. Entomol. Soc. Canada. 97: 107-116.

Hemati, S. A., Naseri, B., Nouri-Ghanbalani, G., Rafiee-Dastjerdi, H., Golizadeh. A. 2012. Effect of different host plants on nutritional indices of the pod borer *Helicoverpa armigera*. J. Insect Sci. 12: 1-15.

Hosseininejad, A. S., Naseri, B., Razmjou, J. 2015. Comparative feeding performance and digestive physiology of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae-fed 11 corn hybrids. J. Insect Sci. 15: 1-6.

Jallow, M. F. A., Zalucki, M. P. 2003. Relationship between oviposition preference and offspring performance in Australian *Helicoverpa armigera* (Hu"bner) (Lepidoptera: Noctuidae). Aust. J. Entomol. 42: 343–348.

Kennedy, G. G., Storer, N. P. 2000. Life systems of poplyphagous arthropod pests in temporally unstable cropping systems. Annu. Rev. Entomol. 45: 467–493.

Kirkpatrick, T. H. 1961. Comparative morphological studies of *Heliothis* species (Lepidoptera: Noctuidae) in Queensland. J. Agric. Sci. 18: 179-194.

Krishnareddy, B., Hanur, V., S. 2015. Enhanced synthetic diet for rearing *H. armigera* under laboratory conditions. J. Entomol. Zoo. Studies. 3: 165-167.

Kriticos, D. J., Ota, N., Hutchison W. D., Beddow, J., Walsh, T., Tay, W. T., Borchert, D. M., Paula-Moreas, S. V., Czepak, C., Zalucki, M. P. 2015. The potential distribution of invading *Helicoverpa armigera* in North America: is it just a matter of time? PLoS One 10: e0119618. doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0119618>

Kumar, S., Saini, R. K. 2008. Feeding preference and damage potential of *Helicoverpa armigera* (Hübner) on different promising cotton genotypes/hybrid. J. Agr. Sci. Tech. 10: 411-420.

Liu, Z. D., Li, D. M., Gong, P. Y., Wu, K. J. 2004. Life table studies of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on different host plants. Environ. Entomol. 33: 1570–1576.

Liu, Z., Gong, P., Heckel, D. G., Wei, W., Sun, J., Li, D. 2009. Effects of larval host plants on over-wintering physiological dynamics and survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). J. Ins. Physiol. 55: 1–9.

Maelzer, D. A., Zalucki, M. P. 1999. Analysis and interpretation of long-term light trap data for *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: the effect of climate and crop host plants. Bull. Entomol. Res. 89: 455–464.

Marur, C. J., Ruano, O. 2001. A reference system for determination of developmental stages of upland cotton. Rev. Oleag. Fibr. 5: 313-317.

Moral Garcia, F. J. 2006. Analysis of the spatio-temporal distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in a tomato fields using a stochastic approach. Biosyst. Eng. 93: 253–259.

Moreau, J., Benrey, B., Thiery, D. 2006. Assessing larval food quality for phytophagous insects: are the facts as simple as they appear? Func. Ecol. 20: 592–600.

Naseri, B., Razmjou, J. 2013. Effect of artificial diets containing different maize hybrids powdered seeds on digestive proteolytic and amylolytic activities and nutritional responses of *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae). Appl. Entomol. Phytop. 80: 9–18.

Naseri, B., Fathipour, Y., Moharramipour, S., Hosseininaveh, V. 2009. Life table parameters of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lep: Noctuidae) on different soybean cultivars. J. Entomol. Soc. Iran. 29: 25–40.

Naseri, B., Fathipour, Y., Moharramipour, S., Hosseininaveh, V. 2011. Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. J. Agric. Sci. Tech. 13: 17–26.

Parra, J. R. P., Panizzi, A. R., Haddad, M. L. 2009. Índices nutricionais para medir consumo e utilização de alimentos por insetos. In: Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de Pragas. Brasília, DF: Embrapa Informações Tecnológicas 37-90p.

Parra, J. R. P. 2009. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In: Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de Pragas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica 91-174p.

Perkins, L. E., Cribb, B. W., Hanan, J., Golan, E., Beveridge, C., Zalucki, M. P. 2008. Where to from here? The mechanisms enabling movement of *Helicoverpa armigera* (Hübner) first instar larvae on pea plants. Art–Plant Inter. 2: 197–207.

Perkins, L. E., Cribb, B. W., Hanan, J., Zalucki, M. P. 2009. The role of two plant-derived volatiles in the foraging movement of 1st instar *Helicoverpa armigera* (Hübner): time to stop and smell the flowers. Art–Plant Inter. 3: 173–179.

Piubelli, G. C., Hoffmann-Campo, C. B., Moscardi, F., Miyakubo, S. H., Oliveira, M. C. N. 2005. Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatalis*? J. Chem. Ecol. 31: 1509-1525.

Pogue, M. G. 2004. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliethinae). Ann. Entomol. Soc. Am. 97: 1222-1226.

Rahimi Namin, F., Naseri, B., Razmjou, J. 2014. Nutritional performance and activity of some digestive enzymes of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, in response to seven tested bean cultivars. J. Insect Sci. 14: 1-18.

Rajapakse, C. N. K., Walter, G. H. 2007. Polyphagy and primary host plants: oviposition preference versus larval performance in the lepidopteran pest *Helicoverpa armigera*. Art-Plant Inter. 1: 17–26. doi:10.1007/s11829-007-9003-6.

Razmjou, J., Naseri, B., Hemati, S. A. 2014. Comparative performance of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. J. Pest Sci. 87: 29–37

RDC360/2003 – BRASIL. Resolução RCD nº 360, 2003. Aprova regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário oficial, Brasília.

Reigada, C., Guimarães, K.F., Parra, J.R.P. 2016. Relative fitness of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on seven host plants: A perspective for IPM in Brazil. J. Insect Sci. 16: 1-5.

Ritchie, S., Hanway, J. J. 1989. How a corn plant develops. Ames: Iowa State University of Science and Technology, Coop. Ext. Serv. (Special Report, 48).

Ritchie, S., Hanway, J. J., Thompson, H. E. 1982. How a soybean plant develops. Ames: Iowa State University of Science and Technology, Coop. Ext. Serv. (Special Report, 53).

Ruan, Y. M., Wu, K. J. 2001. Performances of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* on different food plants. Acta Entomol. Bohem. 44: 205–212.

Sarfraz, M., Dosdall, L. M., Keddle, B. A. 2006. Diamondback moth-host plant interactions: implications for pest management. Crop Prot. 25: 625–636.

Scott, L. J., Lawrence, N., Lange, C. L., Graham, G. C., Hardwick, S., Rossiter, L., Dillon M. L., Scott, K. D. 2006. Population dynamics and gene flow of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton and grain crops in the Murrumbidgee Valley, Australia. Entomol. Soc. Am. 99: 155-163.

Schellhorn, N. A., Pierce, S., Bianchi, F. J. J. A., Williams, D., Zalucki, M. P. 2008. Designing landscapes for multiple outcomes in broadacre environments. Aust. J. Exp. Agric. 48: 1549–1559.

Scriber, J. M., Slansky, F. 1981. The nutritional ecology of immature insects. Annu. Rev. Entomol. 26: 183-211.

Siegel, S., Castellan, J. N. J. 2006. Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento. 2 ed. Porto Alegre: Artmed. 448p.

Silva, D. M., Bueno, A. F., Andrade, K., Stecca, C. S., Oliveira, P. M., Neves, J., de Oliveira, M. C. N. 2017. Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. Sci. Agric. 74: 8-31. doi: 10.1590/1678-992X-2015-0160

Soleimannejad, S., Fathipour, Y., Moharramipour, S., Zalucki, M. P. 2010. Evaluation of potential resistance in seeds of different soybean cultivars to *Helicoverpa*

armigera (Lepidoptera: Noctuidae) using demographic parameters and nutritional indices. J. Econ. Entomol. 103: 1420-1430.

Sosa-Gómez, D. R., Specht, A., Paula-Moraes, S. V., Lopes-Lima, A., Yano, S. A. C., Micheli, A., Moraes, E. G. F., Gallo, P., Pereira, P. R. V. S., Salvadori, J. R., Botton, M., Zenker, M. M., Azevedo-Filho, W. S. 2016. Timeline and geographical distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliothinae) in Brazil. Rev. Bras. Entomol. 60: 101-104.

Southwood, T. R. E., Henderson, P. A. 2000. Ecological methods, 3rd edn. Blackwell Science, Oxford, 592p.

Specht, A., Roque-Specht, V. F. 2016. Immature stages of *Spodoptera cosmioides* (Lepidoptera: Noctuidae): developmental parameters and host plants. Zool. 33: 1-10. doi: 10.1590/S1984-4689zool-20160053.

Specht, A., Sosa-Gómez, D. R., Paula-Moraes, S. V. D., Yano, S. A. G. 2013. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. Pesq. Agropec. Bras. 48: 689-692.

Stillwell, R. C., Blanckenhorn, W. U., Teder, T., Davidowitz, G., Fox, C. W. 2010. Sex differences in phenotypic plasticity affect variation in sexual size dimorphism in insects: from physiology to evolution. Ann. Rev. Entomol. 55: 227-245.

Talekar, N. S., Opena, R. T., Hanson, P. 2006. *Helicoverpa armigera* management: a review of AVRDC's research on host plant resistance in tomato. Crop Prot. 25: 461–467.

Tisdale, R.A., Sappington, T. W. 2001. Realized and potential fecundity, egg fertility, and longevity of laboratory-reared female beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) under different adult diet regimes. Ann. Entomol. Soc. Am. 94: 415-419.

Umbanhowar, J., Hastings, A. 2002. The impact of resource limitation and the phenology of parasitoid attack on the duration of insect herbivore outbreaks. *Theor. Pop. Biol.* 62: 259–269. doi:10.1006/tpbi.2002.1617.

Yamasaki, A., Fujisaki, K. 2010. Larval feeding preference and performance of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on different flower parts of cosmos. *Appl. Entomol. Zool.* 45: 627–633.

Yamasaki, A., Shimizu, K., Fujisaki, K. 2009. Effect of host plant part on larval body-color polymorphism in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 102: 76–84.

Yue, Z., Liu, X., Zhou, Z., Hou, G., Hua, J., Zhao, Z. 2016. Development of a novel-type transgenic cotton plant for control of cotton bollworm. *Plant Biotech. J.* 14: 1–9 doi: 10.1111/pbi.12534.

Zalucki, M. P., Clarke, A. R., Malcolm, S. B. 2002. Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. *Ann. Rev. Entomol.* 47: 361–393.

Zalucki, M. P., Furlong, M. J. 2005. Forecasting *Helicoverpa* populations in Australia: a comparison of regression based models and a bioclimatic based modelling approach. *Insect Sci.* 12: 45–56.

Zalucki, M. P., Daglish, G., Firempong, S., Twine, P. 1986. The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hübner) and *Heliothis punctigera* Wallengren (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: what do we know? *Aust. J. Zool.* 34: 779–814.

Tabela 1. Análise centesimal das dietas naturais e artificial utilizadas como fontes alimentares para larvas de *Helicoverpa armigera* em condições controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R. e 14h de fotofase).

Constituinte	Algodão		Milho			Soja		Dieta artificial
	Folha	Maçã	Folha	Grão	Estigma	Folha	Vagem	
Carboidratos g/100g ⁽¹⁾	4,00	16,50	1,00	29,70	8,00	6,00	1,70	8,10
Cinzas a 550°C mg/100g ⁽¹⁾	2,70	1,20	1,50	0,30	0,90	2,00	2,20	0,70
Fibra alimentar total g/100g ⁽¹⁾	<0,01	<0,01	2,60	1,60	4,70	8,00	13,80	1,60
Fósforo mg/100g ⁽²⁾	82,62	84,55	145,78	284,38	13,74	830,00	18,00	145,03
Gorduras insaturada g/100g ⁽¹⁾	0,77	0,93	0,58	1,04	0,61	0,51	2,20	0,70
Gordura saturadas g/100g ⁽¹⁾	0,23	0,27	0,52	0,29	0,18	0,29	1,30	0,02
Magnésio mg/100g ⁽²⁾	118,30	34,13	50,00	62,17	33,71	110,00	111,00	36,10
Manganês mg/100g ⁽²⁾	1,38	0,20	1,89	1,76	1,97	3,00	0,96	9,95
Potássio mg/100g ⁽²⁾	883,44	749,17	477,20	258,82	290,03	290,00	5.000,00	192,50
Proteína total g/100g ⁽¹⁾	4,30	4,10	2,40	1,30	0,50	4,00	6,40	5,30
Sódio mg/100g ⁽²⁾	27,48	18,50	57,20	49,08	44,80	12,00	13,00	13,20
Valor Energético kcal/g ⁽³⁾	42,00	93,00	32,00	136,00	41,00	47,00	64,00	60,00
Zinco mg/100g ⁽²⁾	0,21	0,36	0,60	0,69	0,37	1,60	2,40	1,05
Ácidos graxos livre g/100g ⁽¹⁾	0,25	0,30	0,40	0,60	0,10	<0,01	<0,01	5,61

⁽¹⁾AOAC - A.O.A.C. INTERNATIONAL, Official Methods of Analysis, 18th edition, Maryland / USA; Current Through - Revision 3, 2010.

⁽²⁾FDA - FDA - Food And Drug Administration. Elemental Analysis Manual. United States of America. Section 4.4 Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometric Determination of Elements in Food Using Microwave Assisted Digestion, August 2010.

⁽³⁾RDC360 / 2003 - BRAZIL. RCD Resolution No. 360 of 23 December 2003. Approves Technical Regulation on Nutritional Labeling of Packaged Food, nutrition labeling becoming mandatory, the National Health Surveillance Agency. Official Gazette, Brasília, December 26, 2003.

Tabela 2. Duração média (dias $\pm$ EP) das fases larval, pré-pupal, pupal e total de *Helicoverpa armigera* sob dietas naturais e artificial em condições controladas (25 $\pm$ 2°C, 70 $\pm$ 10% U.R. e 14h de fotofase).

Dieta	Larva	Pré-pupa	Pupa	Total
	Média*	Média*	Média*	Média*
Algodão folha	21,32 $\pm$ 0,36 ab	3,10 $\pm$ 0,11 bc	11,32 $\pm$ 0,21 ab	35,75 $\pm$ 0,49 bc
Algodão maçã	23,32 $\pm$ 0,46 a	3,37 $\pm$ 0,15 ab	11,48 $\pm$ 0,14 a	38,16 $\pm$ 0,52 a
Milho folha	19,57 $\pm$ 0,24 cd	2,91 $\pm$ 0,05 bc	11,47 $\pm$ 0,12 a	33,95 $\pm$ 0,29 cd
Milho grão	19,89 $\pm$ 0,35 bc	3,33 $\pm$ 0,14 ab	11,52 $\pm$ 0,12 a	34,74 $\pm$ 0,39 c
Milho estigma	20,52 $\pm$ 0,49 bc	3,00 $\pm$ 0,14 bc	11,48 $\pm$ 0,19 a	35,00 $\pm$ 0,54 bc
Soja folha	21,82 $\pm$ 0,27 a	3,24 $\pm$ 0,07 bc	11,62 $\pm$ 0,13 a	36,68 $\pm$ 0,34 ab
Soja vagem	19,28 $\pm$ 0,32 cd	3,83 $\pm$ 0,21 a	11,28 $\pm$ 0,14 ab	34,38 $\pm$ 0,44 c
Dieta artificial	18,63 $\pm$ 0,27 de	2,77 $\pm$ 0,08 c	10,76 $\pm$ 0,14 b	32,16 $\pm$ 0,33 d
<i>P</i>	0,0227	0,0118	0,0020	0,0001

*Médias seguidas de mesma letra, dentro da coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis ($P>0,05$).

Tabela 3. Correlação de Pearson entre os componentes principais identificando a contribuição de cada componente da dieta nas dimensões 1 (eixo horizontal) e 2 (eixo vertical) sobre a duração das fases larval e pupal e sobre o peso pupal de *Helicoverpa armigera*.

Componente da dieta	Parâmetro biológico*					
	Fase larval (dias)		Fase pupal (dias)		Peso pupal (mg)	
	1	2	1	2	1	2
Variância	7,16	4,59	7,14	4,29	7,13	4,30
Variância %	44,74	28,67	44,65	26,82	44,59	26,89
Variância acumulada %	44,74	73,41	44,65	71,47	44,59	71,48
Carboidratos	-0,388	-0,468	-0,402	-0,460	-0,402	-0,442
Cinzas	0,704	0,023	0,703	0,017	0,700	0,001
Fibra alimentar total	0,899	0,180	0,907	0,136	0,907	0,125
Fósforo	0,946	0,175	0,952	0,136	0,954	0,129
Gorduras insaturadas	0,831	0,039	0,831	0,017	0,834	0,021
Gorduras saturadas	0,927	-0,104	0,925	-0,140	0,924	-0,147
Magnésio	0,774	-0,071	0,772	-0,102	0,770	-0,115
Manganês	-0,486	0,844	-0,459	0,850	-0,452	0,854
Potássio	0,933	0,125	0,936	0,101	0,938	0,098
Proteína total	0,490	0,760	0,509	0,769	0,516	0,768
Sódio	-0,319	-0,699	-0,335	-0,718	-0,343	-0,720
Valor energético	0,154	-0,776	0,131	-0,782	0,127	-0,771
Zinco	0,788	0,459	0,804	0,419	0,808	0,412
Ácidos graxos livres	-0,515	0,813	-0,490	0,828	-0,482	0,836
Parâmetro biológico*	0,189	-0,598	-0,130	0,123	0,083	0,171

Tabela 4. Correlação de Spearman entre os parâmetros biológicos de *Helicoverpa armigera* e os principais constituintes das dietas.

Constituintes	Duração (dias)				Peso (mg)	
	Larva		Pupa		Pupa	
	Correlação	Sig*	Correlação	Sig*	Correlação	Sig*
Carboidratos	0,035	0,5137	0,086	0,1041	0,244	<0,0000
Cinzas a 550°C	0,211	<0,0001	-0,114	0,0321	-0,142	0,0072
Fibra alimentar	-0,158	0,0030	-0,046	0,3920	-0,186	<0,0001
Fósforo	-0,109	0,0402	-0,040	0,4562	-0,026	0,6194
Gorduras insaturadas	0,246	<0,0001	-0,077	0,1514	0,345	<0,0001
Gorduras saturadas	0,245	<0,0001	-0,110	0,0383	-0,144	0,0070
Magnésio	0,076	0,1524	-0,100	0,0601	-0,057	0,2861
Manganês	-0,600	>0,0001	0,122	0,0221	-0,102	0,0552
Potássio	0,490	>0,0001	-0,147	0,0053	-0,048	0,3723
Proteína total	-0,207	>0,0001	-0,028	0,5977	0,284	>0,0001
Sódio	0,204	>0,0001	-0,015	0,7776	-0,157	0,0034
Valor energético	0,487	>0,0001	-0,063	0,2394	0,056	0,2953
Zinco	-0,403	>0,0001	0,015	0,7812	0,098	0,0644
Ácidos graxos livres	-0,357	>0,0001	0,106	0,0471	0,167	0,0025

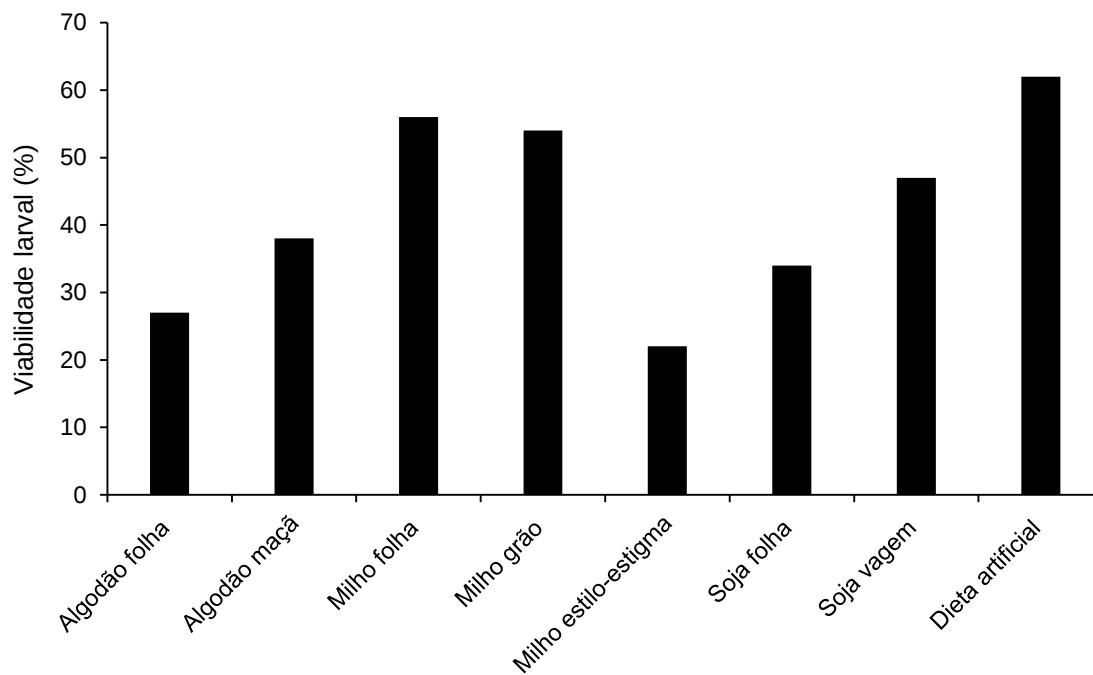


Fig 1. Viabilidade larval (%) de *Helicoverpa armigera* em dietas naturais e artificial em condições controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R. e 14h de fotofase).

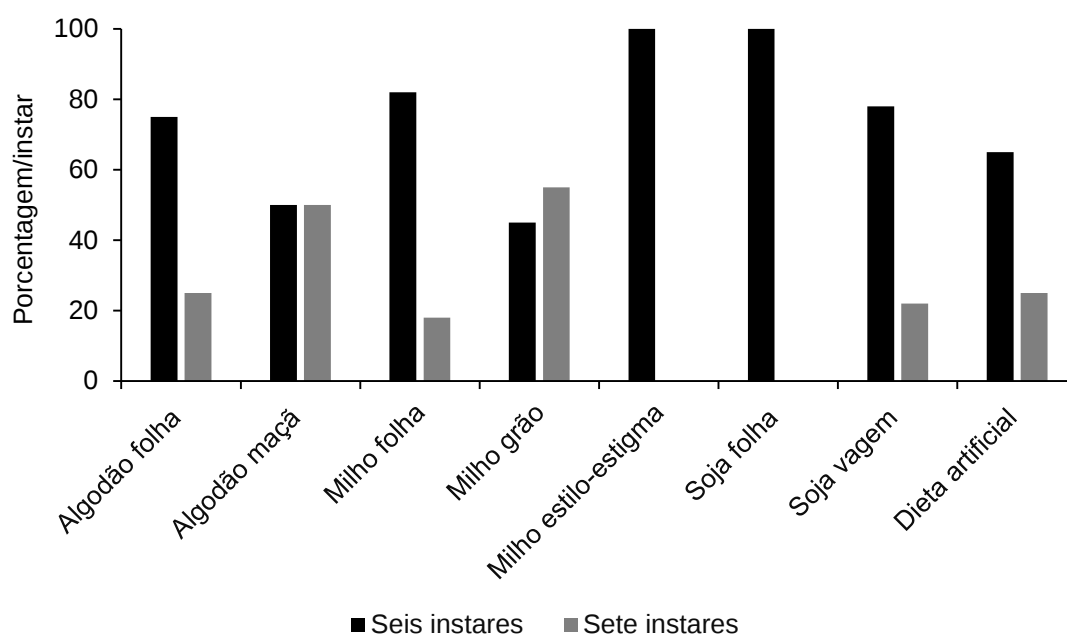


Fig 2. Porcentagem de larvas de *Helicoverpa armigera* que passaram por seis e sete instares sob dietas naturais e artificial em condições controladas ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R. e 14h de fotofase).

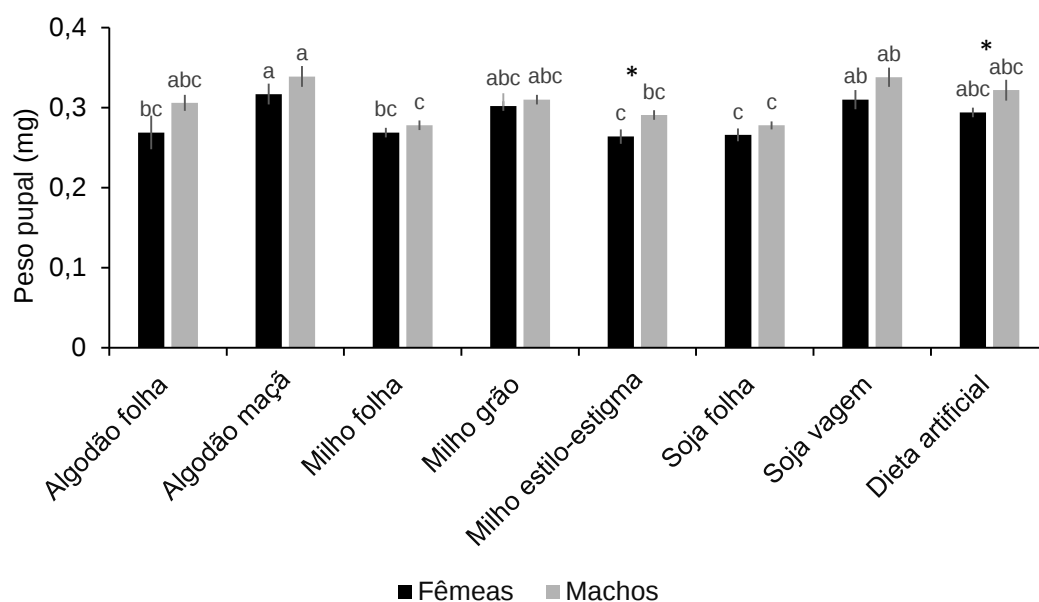


Fig 3. Peso médio ($\pm$ EP) de pupas fêmeas e machos de *Helicoverpa armigera* provenientes de dietas naturais e artificial em condições controladas ($25\pm 2^\circ\text{C}$, $70\pm 10\%$ U.R. e 14h de fotofase). Colunas seguidas de mesma letra por sexo, não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($P>0,05$). * indica diferença entre sexo na mesma dieta segundo o teste de Kruskal-Wallis ($P<0,01$)

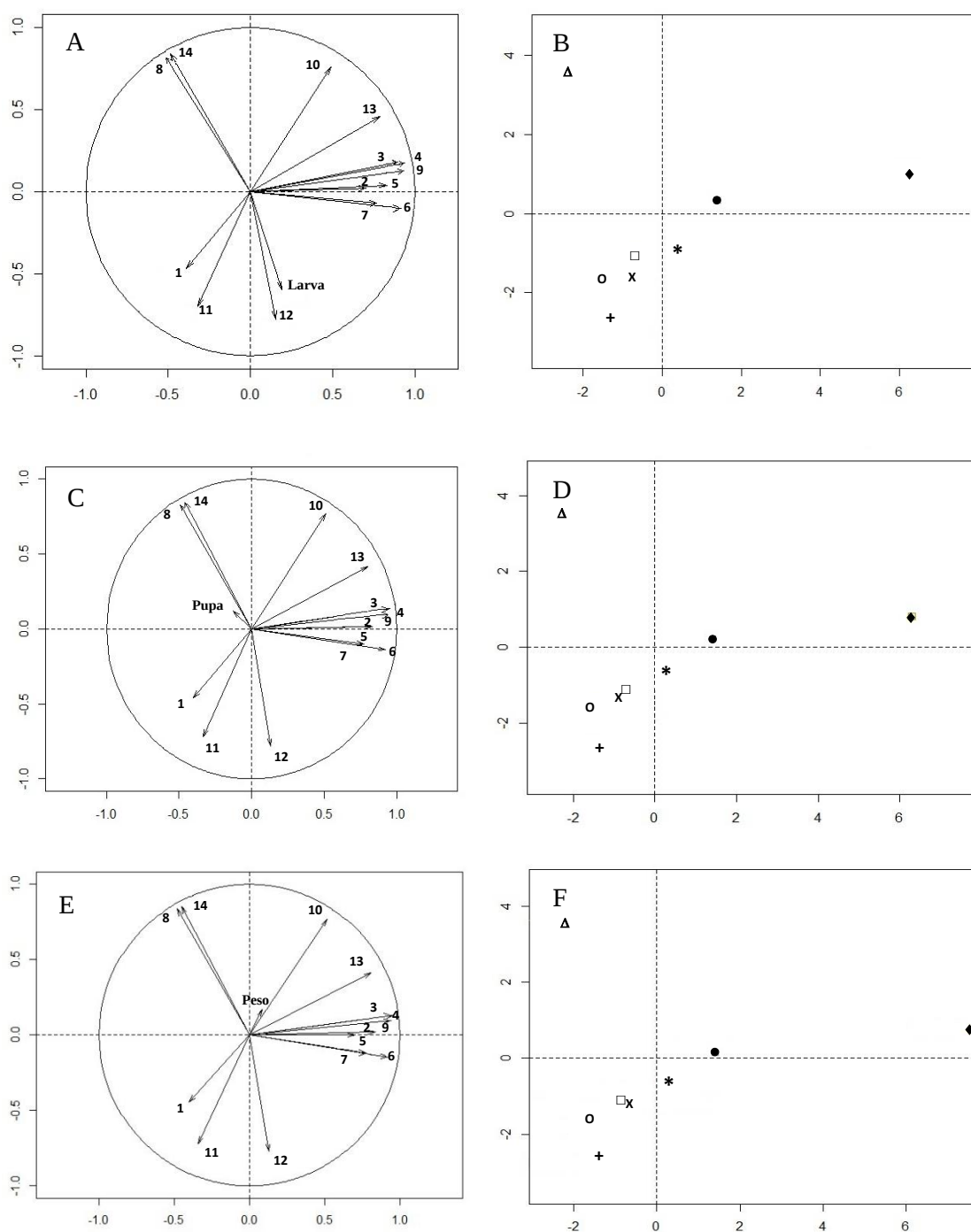


Fig 4. Círculos de correlação entre os componentes das dietas (1-14) e a duração das fases larval (A), pupal (C) e peso pupal (E) de *Helicoverpa armigera* e respectivos diagramas de ordenação das dietas (B, D e F). Parâmetros das dietas: 1 - carboidratos, 2 - cinzas, 3 - fibra alimentar total, 4 - fósforo, 5 - gorduras insaturadas, 6 - gorduras saturadas, 7 - magnésio, 8 - manganês, 9 - potássio, 10 - proteína total, 11 - sódio, 12 - valor energético, 13 - zinco, 14 - ácidos graxos livres. Dietas: * folha de algodão, x - maçã de algodão, □ - folha de milho, + - grão de milho, o – estigma de milho, • - folha de soja, ♦ - vagem de soja e Δ - dieta artificial.

2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Helicoverpa armigera apresenta elevado potencial de destruição para os sistemas agrícolas do Brasil. Considerando-se aspectos intrínsecos desse inseto, tais como hábito polífago, elevado potencial de dispersão, presença de diversos haplótipos, aliados à vasta fronteira agrícola do país e oferta de alimento, informações adicionais sobre sua performance biológica e dinâmica populacional são essenciais na busca para um melhor entendimento sobre a espécie. Análises moleculares por meio de microssatélites, verificando a similaridade genética entre os diferentes haplótipos e a comparação dos aspectos biológicos, são fundamentais para validar informações e correlacionar com diferentes níveis de performance. No presente estudo, essas ferramentas permitiram afirmar que as populações de *H. armigera* presentes em diferentes regiões do Brasil são derivadas de uma única população.

Como é de conhecimento, a disponibilidade dos hospedeiros tem impacto direto sobre os surtos populacionais dos insetos, e esses, por sua vez, não apresentam o mesmo desenvolvimento e crescimento quando se alimentam de diferentes fontes alimentares. A avaliação de parâmetros biológicos permite entender porque um indivíduo dentro de uma mesma população responde diferentemente frente a um determinado alimento. Alterações no crescimento do inseto podem ocorrer pela inibição da assimilação, ou ineficiência de conversão do alimento ingerido ou, ainda, da combinação desses dois parâmetros. Componentes específicos das dietas, como água, macro e micronutrientes e metabólitos secundários das plantas podem afetar profundamente o comportamento e/ou a fisiologia dos insetos.

A proposta de padronização de dieta artificial para larvas de *H. armigera*, com detalhamento dos valores nutricionais para a criação do inseto em laboratório, possibilita o fornecimento ininterrupto de insetos, com qualidade e em quantidades desejáveis, preservando as características naturais da espécie. A possibilidade de utilização de uma dieta padrão, com elevados índices de viabilidade larval (superando inclusive a de dietas naturais) permite igualar (nivelar) a produção de *H. armigera*, independentemente da origem e do hospedeiro original do inseto e servirá como base para comparações futuras em estudos envolvendo este lepidóptero e dietas naturais e artificiais.

3. CONCLUSÕES

- A dieta artificial proposta é adequada ao desenvolvimento de *H. armigera* em laboratório;
- As populações de *H. armigera* avaliadas (SP, BA e DF) são derivadas de uma população única;
- Insetos provenientes da Bahia (origem em algodão) apresentam maior potencial biótico;
- As dietas naturais e artificial apresentam 14 nutrientes essenciais em comum, os quais afetam diferentemente a duração e o peso de fases imaturas do inseto;
- A dieta artificial possibilita maior viabilidade larval de *H. armigera* em comparação com estruturas vegetativas e reprodutivas (isoladas) de algodão, milho e soja.

REFERÊNCIAS

- ALI, A.; CHOUDHURY, R.A.; AHMAD, Z.; RAHMAN, F.; KHAN, F.R.; AHMAD, S.K. Some biological characteristics of *Helicoverpa armigera* on chickpea. **Tunisian Journal of Plant Protection**, v.4, p. 99-106, 2009.
- ARNEMANN, J.A.; JAMES, W.J.; WALSH, T.K.; GUEDES, J.V.C.; SMAGGHE, G.; CASTIGLIONI, E.; TAY, W.T. Mitochondrial DNA COI characterization of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Paraguay and Uruguay. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, p. 1-8, 2016.
- BAKER, G.H.; TANN, C.R. Mating of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) moths and their host plant origins as larvae within Australian cotton farming systems. **Bulletin of Entomological Research**, v. 103, p. 171–181, 2013. doi:10.1017/S0007485312000508.
- BARBOSA, T.A.N.; MENDES, S.M.; RODRIGUES, G.T.; RIBEIRO, P.E.A.; SANTOS, C.A.; VALICENTE, F.H.; OLIVEIRA, C.M. Comparison of biology between *Helicoverpa zea* and *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) reared on artificial diet. **Florida Entomologist**, v. 99, p. 72-76, 2016.
- CHAKROUN, M.; BANYULS, N.; WALSH, T.; DOWNES, S.; JAMES, B.; FERRÉ, J. Characterization of the resistance to Vip3Aa in *Helicoverpa armigera* from Australia and the role of midgut processing and receptor binding. **Scientific Reports**, v. 6:24311, 2016. doi: 10.1038/srep24311
- COHEN, A.C. **Insect diet: science and technology**. Florida: Boca Raton, 2004, 324p.
- CUNNINGHAM, J.P.; ZALUCKI, M.P. Understanding Heliothine (Lepidoptera: Heliothinae) pests: what is a host plant? **Journal of Economic Entomology**, v. 107, p. 881-896, 2014.

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K.C.; VIVAN, L.M.; GUIMARÃES, H.O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 110-113, 2013.

DOURADO, P.M.; BACALHAU, F.B.; AMADO, D.; CARVALHO, R.A.; MARTINELLI, S.; HEAD, G.P.; OMOTO, C. High Susceptibility to Cry1Ac and low resistance allele frequency reduce the risk of resistance of *Helicoverpa armigera* to Bt soybean in Brazil. **PLoS One**, v. 11: e0161388, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0161388.

EFSA. Scientific Opinion on the pest categorisation of *Helicoverpa armigera* (Hübner). **EFSA Journal**, v. 12, p.1-28, 2014. doi:10.2903/j.efsa.2014.3833.

EMBRAPA. Nota técnica sobre resultado do trabalho inicial de levantamento da lagarta do gênero *Helicoverpa* – detecção da espécie *Helicoverpa armigera* no Brasil. Nota técnica, 2013. Planaltina: Embrapa Cerrados.

EPPO. PQR database. Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. Disponível em: <<http://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>> Acesso em 15 outubro 2016.

FARIAS, J.R.; HORIKOSHI, R.J.; SANTOS, AC.; OMOTO, C. Geographical and temporal variability in susceptibility to Cry1F toxin from *Bacillus thuringiensis* in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, p. 2182-2189, 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1603/EC14190>.

FITT, G.P. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, v. 34, p. 17-53, 1989.

FOWLER, G.; LAKIN, K. Risk assessment: The Old Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner), (Lepidoptera: Noctuidae), USDA-APHIS, **Center for Plant Health Science and Technology** (Internal Report), Raleigh, p. 1-19, 2001.

GASSMANN, A.J.; ONSTAD, D.W.; PITTENDRIGH, B.R. Evolutionary analysis of herbivorous insects in natural and agricultural environments. **Pest Management Science**. 65, p. 1174–1181, 2009. doi: 10.1002/ps.1844.

HARDWICK, D.F. The corn earworm complex. **Memoirs of the Entomological Society of Canada**, 1965, 247p.

HAYDEN, J.E.; BRAMBILA, J. *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), the Old World Bollworm. Pest Alert, Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. Report No.: FDACS-02039, 2015.

HOU, M.; SHENG, C. Fecundity and Longevity of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): Effects of Multiple Mating. **Journal of Economic Entomology**, v. 92, p. 569-573, 1999.

JALLOW, M.F.A.; ZALUCKI, M.P. Relationship between oviposition preference and offspring performance in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Australian Journal of Entomology**, v. 42, p. 343–348, 2003.

KARIM, S. Management of *Helicoverpa armigera*: a review and prospectus for Pakistan. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 3, p. 1213-1222, 2000.

KING, A.B.S. *Heliothis/Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae). In: MATTHEWS, G. A.; TUNSTALL J.P. Insect Pests of Cotton. CABI International, Wallingford, p. 39-106, 1994.

KRISHNAREDDY, B.; HANUR, V.S. Enhanced synthetic diet for rearing *H. armigera* under laboratory conditions. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 3, p. 165-167, 2015.

KRITICOS, D.J.; OTA, N.; HUTCHISON, W.D.; BEDDOW, J.; WALSH, T.; TAY, W.T.; BORCHERT, D.M.; PAULA-MOREAS, S.V.; CZEPAK, C.; ZALUCKI, M.P. The

potential distribution of invading *Helicoverpa armigera* in north America: Is it just a matter of time? **PLoS One**, v. 10, p. 1-24, 2015. doi:10.1371/journal.pone.0119618.

LAMMERS, J.W.; MACLEOD, A. 2007. Report of a pest risk analysis: *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808). Disponível em: <<http://www.fera.defra.gov.uk/plants/plantHealth/pestsDiseases/documents/helicoverpa.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2016.

LEITE, N.A.; ALVES-PEREIRA, A.; CORRÊA, A.S.; ZUCCHI, M.I.; OMOTO, C. Demographics and genetic variability of the new world bollworm (*Helicoverpa zea*) and the old world bollworm (*Helicoverpa armigera*) in Brazil. **PLoS One**. v. 9, p. 1-9, 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0113286>.

LIN, M.Y.; YUN-CHE, H. Insect and mite pests on tomato: identification and management, in: SRINIVASAN, R. Safer tomato production techniques: A field guide for soil fertility and pest management, AVRDC-WorldVegetableCenter Publication. Taiwan p. 23-61, 2010.

LIU, Z.; LI, D.; GONG, P.; WU, K. Life table studies of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on different host plants. **Environmental Entomology**, v. 33, p. 1570-1576, 2004.

MAELZER, D.A.; ZALUCKI, M.P. Analysis of long-term light-trap data for *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: the effect of climate and crop host plants. **Bulletin of Entomological Research**, v. 89, p. 455–463, 1999.

MAHON, R.J.; OLSEN, K.M.; GARSIA, K.A.; YOUNG, R.S. Resistance to *Bacillus thuringiensis* Toxin Cry2Ab in a strain of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. **Journal of Economic Entomology**, v. 100, p. 894-902, 2007.

MASTRANGELO, T.; PAULO, D.F.; BERGAMO, L.W.; MORAIS, E.G. Detection and genetic diversity of a *Heliothine* invader (Lepidoptera: Noctuidae) from north and northeast of Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, p. 970-980, 2014.

MIRONIDIS, G.K.; KAPANTAIKAKI, D.; BENTILA, M.; MOROU, E.; SAVOPOULOU-SOULTANI, M.; VONTAS, J. Resurgence of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in northern Greece associated with insecticide resistance. **Insect Science**, v. 20, p. 505-512, 2013.

MORAL GARCIA, F.J. Analysis of the spatiotemporal distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) in a tomato field using a stochastic approach. **Biosystems Engineering**, v. 93, p. 253-259, 2006.

MURÚA, M.G.; SCALORA, F.S.; NAVARRO, F.R.; CAZADO, L.E.; CASMUZ, A.; VILLAGRÁN, M.E.; LOBOS, E.; GASTAMINZA, G. First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. **Florida Entomologist**, v. 97, p. 854-856, 2014.

NASERI, B.; FATHIPOUR, Y.; MOHARRAMIPOUR, S.; HOSSEININAVEH, V.; Comparative reproductive performance of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on thirteen soybean varieties. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 13, p. 17-26, 2011.

Paraguay. Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal (Senave). 2014. Paraguay: Asunción. Disponível em: <<http://www.senave.gov.py/noticias-85-SENAVE-reafirma-su-autoridad-en-materia-fitosanitaria.html>>. Acesso em 15 janeiro 2016.

PARRA, J.R.P. A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia, in: PANIZZU, A.R & PARRA, J.R.P. Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília. 91-174, 2009.

PEDGLEY, D.E. Windborne migration of *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to the British Isles. **Entomologist's Gazette**, v. 36, p. 15-20, 1985.

PERKINS, L.E.; CRIBB, B.W.; HANAN, J.; GOLAN, E.; BEVERIDGE, C.; ZALUCKI, M.P. Where to from here? The mechanisms enabling movement of *Helicoverpa armigera* (Hübner) first instar larvae on pea plants. **Arthropod–Plant Interactions**, v. 2, p.197–207, 2008.

PERKINS, L.E.; CRIBB, B.W.; HANAN, J.; ZALUCKI, M.P. The role of two plant-derived volatiles in the foraging movement of 1st instar *Helicoverpa armigera* (Hübner): time to stop and smell the flowers. **Arthropod–Plant Interactions** v. 3, p.173–179, 2009.

REIGADA, C.; GUIMARÃES, K.F.; PARRA, J.R.P. Relative fitness of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on seven host plants: A perspective for IPM in Brazil. **Journal Insect Science**, v. 16, p. 1-5, 2016.

RIJAL, J. P. **Monitoring and management of *Helicoverpa armigera* (Hübner) with native isolates of insect pathogenic fungi**. 2006. 129p. Dissertação (Master of Sciences in Agriculture - Entomology) - Tribhuvan University Institute of Agriculture and Animal Sciences, Rampur, Chitwan, Nepal, 2006.

RUAN, Y.M.; WU, K.J. Performances of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, on different food plants. **Acta Entomology Bohemoslovaca**, v. 44, p. 205-212, 2001.

SAITO, O. Flight activity changes of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), by aging and copulation as measured by flight actograph. **Applied Entomology and Zoology**, v. 35, p. 53-61, 1999.

SARFRAZ, M.; DOSDALL, L.M.; KEDDIE, B.A. Diamondback moth-host plant interactions: Implications for pest management. **Crop Protection**, v. 25, p. 625-639, 2006.

SHELLHORN, N.A.; PIERCE, S.; BIANCHI, F.J.J.A.; WILLIAMS, D.; ZALUCKI, M.P. Designing landscapes for multiple outcomes in broad-acre environments. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, p. 1549-1559, 2008.

SCHNEIDER, J.C. 2009. **Principles and procedures for rearing high quality insects**. Mississippi State University, 352p.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de Ecologia dos Insetos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1976, 419p.

SINGH, O.P.; PARIHAR, S.B.B. Effect of different hosts on the development of *Heliothis armigera* Hub. **Bulletin of Entomological Research**, v. 29, p. 168–172, 1988.

SOSA-GÓMEZ, D.R.; SPECHT, A.; PAULA-MORAES, S.V.; LOPES-LIMA, A.; YANO, S.A.C.; MICHELI, A.; MORAIS, E.G.; GALLO, P.; PEREIRA, P.R.V.S.; SALVADORI, J.R.; BOTTON, M.; ZENKER, M.M.; AZEVEDO-FILHO, W, S. Timeline and geographical distribution of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae: Heliothinae) in Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 60, p. 101-104, 2016.

SOUTHWOOD, T.R.E.; HENDERSON, P.A. **Ecological methods**, Blackwell Science, Oxford, 2000, 592p.

SPECHT, A.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PAULA-MORAES, S.V.D.; YANO, S.A.G. Identificação morfológica e molecular de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) e ampliação de seu registro de ocorrência no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, p. 689-692, 2013.

SUZANA, C.S.; DAMIANI, R.; FORTUNA, L.S.; SALVADORI, JR. Desempenho de larvas de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes fontes alimentares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 480-485, 2015.

TABASHNIK, B.E.; BRÉVAULT, T.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, v. 31, p. 510-521, 2013. doi:10.1038/nbt.2597.

TALEKAR, N.S.; OPENA, R.T.; HANSON, P. *Helicoverpa armigera* management: A review of AVRDC's research on host plant resistance in tomato. **Crop Protection**, v. 25, p. 461–467, 2006.

TAY, W.T.; SORIA, M.F.; WALSH, T.; THOMAZONI, D.; SILVIE, P.; BEHERE, G.T.; ANDERSON, C.; DOWNES, S. A brave new world for an old world pest: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. **PLoS One**, v. 8, p.1-7, 2013.

TENG, Z.Q.; HE, Q.; LI, H.T.; ZHANG, Q.W. Interspecific and intraspecific comparisons of ejaculates in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* and the tobacco budworm *H. assulta*. **Journal of Ethology**, v. 27, p. 19–24, 2009.

WOESTMANN, L.; SAASTAMOINEN, M. The importance of trans-generational effects in Lepidoptera. **Current Zoology**, v. 6, p. 489–499, 2016. doi: 10.1093/cz/zow029.

ZALUCKI, M.P.; DAGLISH, G.; FIREMPONG, S.; TWINE, P.H. The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hübner) and *H. punctigera* Wallengren (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: what do we know? **Australian Journal of Zoology**, v. 34, p. 779–814, 1986.

ZALUCKI, M.P.; FURLONG, M.J. Forecasting *Helicoverpa* populations in Australia: a comparison of regression based models and a bioclimatic based modelling approach. **Journal Insect Science**, v. 12, p. 45–56, 2005.

ZALUCKI, M.P.; MURRAY, D.A.H.; GREGG, P.C.; FITT, G.P.; TWINE, P.H.; JONES, C. Ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *H. punctigera* (Wallengren) in the

inland of Australia: larval sampling and host plant relationships during winter and spring. **Australian Journal of Zoology**, v. 42, p. 329-346, 1994.

ZHANG, H.N.; TIAN, W.; ZHAO, J.; JIN, L.; YANG, J.; LIU, CH.; YANG, Y.H. Diverse genetic basis of field-evolved resistance to Bt cotton in cotton bollworm from China. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, p. 10275–10280, 2012.

ANEXO 1

LAUDO/OS Nº 186878	MRL
1/2	
EMIÇÃO 01	

LAUDO DE ENSAIOS LABORATORIAIS
AMOSTRA – FOLHAS DE ALGODÃO

PARÂMETRO	UNIDADE	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO	RESULTADO	ANÁLISE		MÉTODO
				INÍCIO	FINAL	
Acidez Livre	% m/m	0,0167	0,25	07/08/15	07/08/15	AOAC / FQ-0105 ⁽¹⁾
Acidez Volátil	g/100g Ac. Acético	0,167	***<LQ	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0068 ⁽¹⁾
Carboidratos	g/100g	0,1	4,0	06/08/15	06/08/15	AOAC / FQ-0056 ⁽¹⁾
Cinzas a 550°C	g/100g	0,1	2,7	06/08/15	06/08/15	AOAC / FQ-0029 ⁽¹⁾
Ferro	mg/100g Fe	0,02	1,88	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Fibra Alimentar Insolúvel	g/100g	0,1	8,2	06/08/15	08/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Solúvel	g/100g	0,1	**ND	06/08/15	08/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Total	g/100g	0,1	**ND	06/08/15	08/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fósforo	mg/100g P	0,03	82,62	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Gorduras Insaturadas	g/100g	0,02	0,77	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Saturadas	g/100g	0,02	0,23	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Totais	g/100g	0,1	1,0	07/08/15	07/08/15	AOAC / FQ-0230 ⁽¹⁾
Gorduras Trans	g/100g	0,02	0,02	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Magnésio	mg/100g Mg	0,2	118,26	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Manganês	mg/100g Mn	0,02	1,38	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Nitrogênio Total	g/100g	0,5	0,7	06/08/15	06/08/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Potássio	mg/100g K	0,2	883,44	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Proteína Total	g/100g	0,2	4,3	06/08/15	06/08/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Sódio	mg/100g Na	0,2	27,48	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Valor Energético (em kcal)	Kcal/100g	1	42	08/08/15	08/08/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Valor Energético (em kJ)	KJ/100g	1	177	08/08/15	08/08/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Zinco	mg/100g Zn	0,02	0,21	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Ácidos Graxos Livres	g/100g	0,02	0,25	07/08/15	07/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Ácidos Graxos Linoleico	g/100g	0,02	***<LQ	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Açúcares Redutores	g/100g	2	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / FQ-0060 ⁽¹⁾
Adonitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabinose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Celobiose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Frutose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Galactose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Glicose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Inositol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltotriose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melezitose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melibiose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Rafinose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Ribose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sacarose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sorbitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Trealose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Turanose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾

*NA: NÃO APLICÁVEL

**ND: NADA DETECTÁVEL

***LQ: MENOR QUE O LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO



ANEXO 2

LAUDO/OS Nº 186879	MRL
1/2	
EMISSÃO 01	

LAUDO DE ENSAIOS LABORATORIAIS AMOSTRA- MAÇAS DE ALGODÃO

PARÂMETRO	UNIDADE	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO	RESULTADO	ANÁLISE		MÉTODO
				INICIO	FINAL	
Acidez Livre	% m/m	0,0167	0,30	07/08/15	07/08/15	AOAC / FQ-0105 ⁽¹⁾
Acidez Volátil	g/100g Ác. Acético	0,167	***<LQ	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0068 ⁽¹⁾
Carboidratos	g/100g	0,1	16,5	06/08/15	06/08/15	AOAC / FQ-0056 ⁽¹⁾
Cinzas a 550°C	g/100g	0,1	1,2	06/08/15	06/08/15	AOAC / FQ-0029 ⁽¹⁾
Ferro	mg/100g Fe	0,02	1,58	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Fibra Alimentar Insolúvel	g/100g	0,1	**ND	06/08/15	08/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Solúvel	g/100g	0,1	**ND	06/08/15	08/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Total	g/100g	0,1	**ND	06/08/15	08/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fósforo	mg/100g P	0,03	84,55	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Gorduras Insaturadas	g/100g	0,02	0,93	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Saturadas	g/100g	0,02	0,27	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Totais	g/100g	0,1	1,2	07/08/15	07/08/15	AOAC / FQ-0230 ⁽¹⁾
Gorduras Trans	g/100g	0,02	***<LQ	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Magnésio	mg/100g Mg	0,2	34,13	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Manganês	mg/100g Mn	0,02	0,20	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Nitrogênio Total	g/100g	0,5	0,6	06/08/15	06/08/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Potássio	mg/100g K	0,2	749,17	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Proteína Total	g/100g	0,2	4,1	06/08/15	06/08/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Sódio	mg/100g Na	0,2	18,50	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Valor Energético (em kcal)	Kcal/100g	1	93	08/08/15	08/08/15	RDC360/2003 ⁽⁴⁾
Valor Energético (em kJ)	KJ/100g	1	391	08/08/15	08/08/15	RDC360/2003 ⁽⁴⁾
Zinco	mg/100g Zn	0,02	0,36	08/08/15	08/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Ácidos Graxos Livres	g/100g	0,02	0,30	07/08/15	07/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Ácidos Graxos Linoleico	g/100g	0,02	**ND	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Acúcares Redutores	g/100g	2	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / FQ-0060 ⁽¹⁾
Adonitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabinose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Celobiose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Frutose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Galactose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Glicose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Inositol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltilol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltotriose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melezitose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melibiose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Rafinose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Ribose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sacarose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sorbitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Trealose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Turanose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilitol	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilose	mg/100g	5	***<LQ	11/08/15	11/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾

*NA: NÃO APLICÁVEL

**ND: NADA DETECTÁVEL

***<LQ: MENOR QUE O LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO



ANEXO 3

LAUDO/OS Nº 186393	MRL
1/2	
EMIÇÃO 01	

LAUDO DE ENSAIOS LABORATORIAIS
AMOSTRA – FOLHAS DE MILHO

PARÂMETRO	UNIDADE	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO	RESULTADO	ANÁLISE		MÉTODO
				INÍCIO	FINAL	
Acidez Livre	g/100g	0,0167	0,40	07/08/15	07/08/15	AOAC / FQ-0105 ⁽¹⁾
Acidez Volátil	g/100g Ac. Acético	0,167	***<LQ	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0068 ⁽¹⁾
Carboidratos	g/100g	0,1	1	12/08/15	12/08/15	AOAC / FQ-0056 ⁽¹⁾
Cinzas a 550°C	g/100g	0,1	1,5	28/07/15	28/07/15	AOAC / FQ-0029 ⁽¹⁾
Ferro	mg/100g Fe	0,02	1,78	31/07/15	31/07/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Fibra Alimentar Insolúvel	g/100g	0,1	3,6	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Solúvel	g/100g	0,1	**ND	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Total	g/100g	0,1	2,6	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fósforo	mg/100g P	0,03	145,78	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Gorduras Insaturadas	g/100g	0,02	0,58	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Saturadas	g/100g	0,02	0,52	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Totais	g/100g	0,1	1,1	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0230 ⁽¹⁾
Gorduras Trans	g/100g	0,02	0,06	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Magnésio	mg/100g Mg	0,2	50,0	31/07/15	31/07/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Manganês	mg/100g Mn	0,02	1,89	31/07/15	31/07/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Nitrogênio Total	g/100g	0,2	4	04/08/15	04/08/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Potássio	mg/100g K	0,2	477,2	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Proteína Total	g/100g	0,2	2,4	04/08/15	04/08/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Sódio	mg/100g Na	0,2	57,2	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Valor Energético (em kcal)	Kcal/100g	1	32	12/08/15	12/08/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Valor Energético (em kJ)	KJ/100g	1	134	12/08/15	12/08/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Zinco	mg/100g Zn	0,02	0,60	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Ácidos Graxos Livres	g/100g	0,02	0,40	07/08/15	07/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Ácidos Graxos Linoleico	g/100g	0,02	**ND	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Açúcares Redutores	g/100g	0,02	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Adonitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabinose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Celobiose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Frutose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Galactose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Glicose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Inositol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltotriose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melezitose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melibiose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Rafinose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Ribose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sacarose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sorbitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Trealose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Turanose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾

*NA: NÃO APLICÁVEL

**ND: NADA DETECTÁVEL

***<LQ: MENOR QUE O LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO



ANEXO 4

LAUDO/OS Nº 186394	MRL
1/2	
EMIÇÃO 01	

LAUDO DE ENSAIOS LABORATORIAIS
AMOSTRA – GRÃOS DE MILHO

PARÂMETRO	UNIDADE	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO	RESULTADO	ANÁLISE		MÉTODO
				INICIO	FINAL	
Acidez Livre	% m/m	0,0167	0,60	07/08/15	07/08/15	AOAC / FQ-0105 ⁽¹⁾
Acidez Volátil	g/100g Ác. Acético	0,167	***<LQ	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0068 ⁽¹⁾
Carboidratos	g/100g	0,1	29,7	12/08/15	12/08/15	AOAC / FQ-0056 ⁽¹⁾
Cinzas a 550°C	g/100g	0,1	0,3	04/08/15	04/08/15	AOAC / FQ-0029 ⁽¹⁾
Ferro	mg/100g Fe	0,02	4,39	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Fibra Alimentar Insolúvel	g/100g	0,1	1,6	10/08/15	10/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Solúvel	g/100g	0,1	**ND	10/08/15	10/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Total	g/100g	0,1	1,6	10/08/15	10/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fósforo	mg/100g P	0,03	284,38	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Gorduras Insaturadas	g/100g	0,02	1,04	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Saturadas	g/100g	0,02	0,29	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Totais	g/100g	0,1	1,3	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0230 ⁽¹⁾
Gorduras Trans	g/100g	0,02	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Magnésio	mg/100g Mg	0,2	62,17	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Manganês	mg/100g Mn	0,02	1,76	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Nitrogênio Total	g/100g	0,2	0,2	04/08/15	04/08/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Potássio	mg/100g K	0,2	258,82	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Proteína Total	g/100g	0,2	1,3	04/08/15	04/08/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Sódio	mg/100g Na	0,2	49,08	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Valor Energético (em kcal)	Kcal/100g	1	136	12/08/15	12/08/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Valor Energético (em kJ)	KJ/100g	1	568	12/08/15	12/08/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Zinco	mg/100g Zn	0,02	0,69	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Ácidos Graxos Livres	g/100g	0,02	0,60	07/08/15	07/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Ácidos Graxos Linoleico	g/100g	0,02	**ND	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Áçúcares Redutores	g/100g	0,02	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Adonitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabinose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Celobiose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Frutose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Galactose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Glicose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Inositol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Malititol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltotriose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melezitose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melibiose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Rafinose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Ribose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sacarose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sorbitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Trealose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Turanose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾

*NA: NÃO APLICÁVEL

**ND: NADA DETECTÁVEL

***<LQ: MENOR QUE O LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO



ANEXO 5

LAUDO/OS Nº 186395	MRL
1/2	
EMIÇÃO 01	

LAUDO DE ENSAIOS LABORATORIAIS
AMOSTRA – ESTIGMAS DE MILHO

PARÂMETRO	UNIDADE	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO	RESULTADO	ANÁLISE		MÉTODO
				INICIAL	FINAL	
Acidez Livre	% m/m	0,0167	0,10	07/08/15	07/08/15	AOAC / FQ-0105 ⁽¹⁾
Acidez Volátil	g/100g Ac. Acético	0,167	***<LQ	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0068 ⁽¹⁾
Carboidratos	g/100g	0,1	8,0	12/08/15	12/08/15	AOAC / FQ-0056 ⁽¹⁾
Cinzas a 550°C	g/100g	0,1	0,9	06/08/15	06/08/15	AOAC / FQ-0029 ⁽¹⁾
Ferro	mg/100g Fe	0,02	1,99	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Fibra Alimentar Insolúvel	g/100g	0,1	4,7	11/08/15	11/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Solúvel	g/100g	0,1	**ND	11/08/15	11/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Total	g/100g	0,1	4,7	11/08/15	11/08/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fósforo	mg/100g P	0,03	13,74	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Gorduras Insaturadas	g/100g	0,02	0,61	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Saturadas	g/100g	0,02	0,18	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Totais	g/100g	0,1	0,8	05/08/15	05/08/15	AOAC / FQ-0230 ⁽¹⁾
Gorduras Trans	g/100g	0,02	***<LQ	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Magnésio	mg/100g Mg	0,2	33,71	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Manganês	mg/100g Mn	0,02	1,97	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Nitrogênio Total	g/100g	0,5	***<LQ	04/08/15	04/08/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Potássio	mg/100g K	0,2	290,03	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Proteína Total	g/100g	0,2	0,5	04/08/15	04/08/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Sódio	mg/100g Na	0,2	44,80	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Valor Energético (em kcal/g)	Kcal/100g	1	41	12/08/15	12/08/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Valor Energético (em kJ/g)	KJ/100g	1	173	12/08/15	12/08/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Zinco	mg/100g Zn	0,02	0,37	05/08/15	05/08/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Ácidos Graxos Livres	g/100g	0,02	0,10	07/08/15	07/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Ácidos Graxos Linoleico	g/100g	0,02	***<LQ	10/08/15	10/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Açúcares Redutores	g/100g	0,02	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Adonitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabinose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Celobiose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Frutose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Galactose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Glicose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Inositol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltotriose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melezitose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melibiose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Rafinose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Ribose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sacarose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sorbitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Trealose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Turanose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilitol	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilose	g/100g	0,1	***<LQ	06/08/15	06/08/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾

*NA: NÃO APLICÁVEL

**ND: NADA DETECTÁVEL

***CLQ: MENOR QUE O LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO



**LAUDO DE ENSAIOS LABORATORIAIS
FOLHAS DE SOJA**

PARÂMETRO	UNIDADE	LIMITE DE Q UANTIFICAÇÃO	RESULTADO	ANÁLISE		MÉTODO
				INIC-10	FINAL	
Acidez Livre	% m/m	0,0167	**ND	16/06/15	16/06/15	AOAC / FQ-0105 ⁽¹⁾
Acidez Volátil	g/100g Ac. Acético	0,167	**ND	16/06/15	16/06/15	AOAC / FQ-0068 ⁽¹⁾
Carboidratos	g/100g	0,1	6,0	19/06/15	19/06/15	AOAC / FQ-0056 ⁽¹⁾
Cinzas a 550°C	g/100g	0,1	2,0	19/06/15	19/06/15	AOAC / FQ-0029 ⁽¹⁾
Ferro	mg/100g Fe	0,02	2,40	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Fibra Alimentar Insolúvel	g/100g	0,1	8,0	19/06/15	19/06/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Solúvel	g/100g	0,1	**ND	19/06/15	19/06/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Total	g/100g	0,1	8,0	19/06/15	19/06/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fósforo	mg/100g P	0,03	830,0	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Gorduras Insaturadas	g/100g	0,02	0,51	16/06/15	16/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Saturadas	g/100g	0,02	0,29	16/06/15	16/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Totais	g/100g	0,1	0,8	16/06/15	16/06/15	AOAC / FQ-0230 ⁽¹⁾
Gorduras Trans	g/100g	0,02	***<LQ	16/06/15	16/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Magnésio	mg/100g Mg	0,2	110,0	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Manganês	mg/100g Mn	0,02	3,00	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Nitrogênio Total	g/100g	0,5	0,6	05/06/15	05/06/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Potássio	mg/100g K	0,2	2900	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Proteína Total	g/100g	0,2	4,0	05/06/15	05/06/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Sódio	mg/100g Na	0,2	12,0	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Valor Energético (em kcal/g)	Kcal/g	1	47,0	19/06/15	19/06/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Valor Energético (em kJ/g)	KJ/g	1	197	19/06/15	19/06/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Zinco	mg/100g Zn	0,02	1,60	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Ácidos Graxos Livres	g/100g	0,02	**ND	16/06/15	16/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Ácidos Graxos Linoleico	g/100g	0,02	0,11	16/06/15	16/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Açúcares Redutores	g/100g	0,02	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Adonitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabinose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Celobiose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Frutose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Galactose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Glicose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Inositol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltotriose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melezitose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melibiose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Rafinose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Ribose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sacarose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sorbitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Trealose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Turanose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾

*NA: NÃO APLICÁVEL

**ND: NADA DETECTÁVEL

***<LQ : MENOR Q UE O LIMITE DE Q UANTIFICAÇÃO



ANEXO 7

LAUDO/OS Nº 183372	MRL
1/2	
EMISSÃO 01	

**LAUDO DE ENSAIOS LABORATORIAIS
VAGENS DE SOJA**

PARÂMETRO	UNIDADE	LIMITE DE Q UANTIFICAÇÃO	RESULTADO	ANÁLISE		MÉTODO
				INICIAL	FINAL	
Acidez Livre	% m/m	0,0167	**ND	16/06/15	16/06/15	AOAC / FQ-0105 ⁽¹⁾
Acidez Volátil	g/100g Ac. Acético	0,167	**ND	16/06/15	16/06/15	AOAC / FQ-0068 ⁽¹⁾
Carboidratos	g/100g	0,1	1,7	19/06/15	19/06/15	AOAC / FQ-0056 ⁽¹⁾
Cinzas a 550°C	g/100g	0,1	2,2	19/06/15	19/06/15	AOAC / FQ-0029 ⁽¹⁾
Ferro	mg/100g Fe	0,02	2,30	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Fibra Alimentar Insolúvel	g/100g	0,1	13,8	19/06/15	19/06/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Solúvel	g/100g	0,1	**ND	19/06/15	19/06/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Total	g/100g	0,1	13,8	19/06/15	19/06/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fósforo	mg/100g P	0,03	1800	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Gorduras Insaturadas	g/100g	0,02	2,20	16/06/15	16/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Saturadas	g/100g	0,02	1,30	16/06/15	16/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Totais	g/100g	0,1	3,5	16/06/15	16/06/15	AOAC / FQ-0230 ⁽¹⁾
Gorduras Trans	g/100g	0,02	1,81	16/06/15	16/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Magnésio	mg/100g Mg	0,2	111,0	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Manganês	mg/100g Mn	0,02	0,96	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Nitrogênio Total	g/100g	0,5	1,0	05/06/15	05/06/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Potássio	mg/100g K	0,2	5000	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Proteína Total	g/100g	0,2	6,4	05/06/15	05/06/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Sódio	mg/100g Na	0,2	13,0	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Valor Energético (em kcal/g)	Kcal/g	1	64	19/06/15	19/06/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Valor Energético (em kJ/g)	KJ/g	1	268	19/06/15	19/06/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Zinco	mg/100g Zn	0,02	2,4	27/06/15	27/06/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Ácidos Graxos Livres	g/100g	0,02	**ND	16/06/15	16/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Ácidos Graxos Linoleico	g/100g	0,02	**ND	16/06/15	16/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Açúcares Redutores	g/100g	0,02	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Adonitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabinose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Celobiose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Frutose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Galactose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Glicose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Inositol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltotriose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melezitose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melibiose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Rafinose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Ribose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sacarose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sorbitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Trealose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Turanose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilitol	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilose	mg/100g	5	***<LQ	09/06/15	09/06/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾

*NA: NÃO APLICÁVEL

**ND: NADA DETECTÁVEL

***<LQ : MENOR Q UE O LIMITE DE Q UANTIFICAÇÃO



ANEXO 8

LAUDO/OS
Nº 182084

1/2 MRL

EMIÇÃO 01

LAUDO DE ENSAIOS LABORATORIAIS
DIETA ARTIFICIAL PARA *Helicoverpa armigera*

ENSAIO	UNIDADE	LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO	RESULTADO	ANÁLISES		MÉTODO
				INICIAL	FINAL	
Acidez Livre	% m/m	0,0167	5,61	24/04/15	24/04/15	AOAC / FQ-0105 ⁽¹⁾
Acidez Volátil	g/100g Ac. Acético	0,167	3,37	24/04/15	24/04/15	AOAC / FQ-0068 ⁽¹⁾
Carboidratos	g/100g	0,1	8,1	20/04/15	05/05/15	AOAC / FQ-0056 ⁽¹⁾
Cinzas a 550°C	g/100g	0,1	0,7	23/04/15	23/04/15	AOAC / FQ-0029 ⁽¹⁾
Ferro	mg/100g Fe	0,02	1,61	20/04/15	27/04/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Fibra Alimentar Insolúvel	g/100g	0,1	1,5	20/04/15	27/04/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Solúvel	g/100g	0,1	0,1	20/04/15	27/04/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fibra Alimentar Total	g/100g	0,1	1,6	20/04/15	27/04/15	AOAC / FQ-0202 ⁽¹⁾
Fósforo	mg/100g P	0,03	145,03	20/04/15	27/04/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Gorduras Insaturadas	g/100g	0,02	0,70	20/04/15	05/05/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Saturadas	g/100g	0,02	0,02	20/04/15	05/05/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Gorduras Totais	g/100g	0,1	0,72	20/04/15	05/05/15	AOAC / FQ-0230 ⁽¹⁾
Gorduras Trans	g/100g	0,02	0,47	20/04/15	05/05/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Magnésio	mg/100g Mg	0,2	36,1	20/04/15	27/04/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Manganês	mg/100g Mn	0,02	9,95	20/04/15	27/04/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Nitrogênio Total	g/100g	0,0334	0,85	20/04/15	27/04/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Potássio	mg/100g K	0,2	192,5	20/04/15	27/04/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Proteína Total	g/100g	0,2	5,3	20/04/15	27/04/15	AOAC / FQ-0048 ⁽¹⁾
Sódio	mg/100g Na	0,2	13,2	20/04/15	27/04/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Valor Energético (em kcal/g)	Kcal/g	1	0,6	20/04/15	05/05/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Valor Energético (em kJ/g)	KJ/g	1	2,5	20/04/15	05/05/15	RDC360/2003 ⁽³⁾
Zinco	mg/100g Zn	0,02	1,05	20/04/15	27/04/15	FDA / FQ-0159 ⁽²⁾
Ácidos Graxos Livres	g/100g	0,02	5,61	20/04/15	05/05/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Ácidos Graxos Linoleico	g/100g	0,02	***<LQ	20/04/15	05/05/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Açúcares Redutores	g/100g	0,02	3,04	28/04/15	28/04/15	AOAC / CR-0090 ⁽¹⁾
Adonitol	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabinose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Arabitól	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Celobiose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Frutose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Galactose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Glicose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Inositol	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactitol	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Lactose	mg/100g	5	3042	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltitol	mg/100g	5	**ND	28/04/15	28/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Maltotriose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manitol	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Manose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melezitose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Melibiose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Rafinose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Ribose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sacarose	mg/100g	5	824	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Sorbitol	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Trealose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Turanose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilitol	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾
Xilose	mg/100g	5	**ND	28/04/15	29/04/15	AOAC / CR-0093 ⁽¹⁾

*NA: Não Aplicável

**ND: Não Detectado

***<LQ: MENOR QUE O LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

